DIE LANGZEITSCHÄDIGUNG DER RATTENLEBER DURCH TETRACHLORKOHLENSTOFF ALS VERSUCHS–MODELL DER EXPERIMENTELLEN LEBERZIRRHOSE UNTERSUCHUNG MIT KLINISCH–CHEMISCHEN UND HISTOLOGISCHEN METHODEN

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich - Wilhelms - Universität
zu Bonn

vorgelegt von
ULRICH KAMPHAUSEN
aus Mönchengladbach

Bonn 1976

DIE LANGZEITSCHÄDIGUNG DER RATTENLEBER DURCH TETRACHLORKOHLENSTOFF ALS VERSUCHS–MODELL DER EXPERIMENTELLEN LEBERZIRRHOSE UNTERSUCHUNG MIT KLINISCH–CHEMISCHEN UND HISTOLOGISCHEN METHODEN

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich - Wilhelms - Universität
zu Bonn

vorgelegt von
ULRICH KAMPHAUSEN
aus Mönchengladbach

Bonn 1976

Angefertigt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

1. Gutachter: Privatdozent Dr. med. K.J. P a q u e t
2. Gutachter: Professor Dr. V. T o t o v i c

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik Bonn
Direktor: Professor Dr. med. A. GÜTGEMANN

Druck: Richard Schwarzbold, 5305 Witterschlick bei Bonn

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Inhaltsverzeichnis Seite

A EINLEITUNG 4

B MATERIAL UND METHODIK 6

I Tiermaterial und Versuchsbedingungen 6

II Labormethoden 6

1 a) Enzyme 6

b) Gesamtbilirubin 8

c) Bromthalein-Retention 8

d) Hydroxyprolin 9

e) Triglyceride 10

f) rel. Lebergewicht 10

g) Tiergewicht 10

2 Histologische Verlaufskontrolle 10

III Statistische Methoden 12

C ERGEBNISSE 13

1 Enzyme 13

a) GOT 13

b) GPT 13

c) Pseudocholinesterase 14

d) Alk. Phosphatase 14

2 a) Gesamtbilirubin 15

b) Bromthalein-Retention 16

3 Hydroxyprolin 16

4 Triglyceride 16

5 rel. Lebergewicht 17

6 Tiergewicht 17

7 Histologie 18

D DISKUSSION 21

E ZUSAMMENFASSUNG 31

F ABBILDUNGEN 32

1 Kurven 32

2 Mikrophotogramme 52

3 Tabellen 69

G LITERATURVERZEICHNIS 91

A EINLEITUNG

Tetrachlorkohlenstoff (CCl_4), eine Substanz, die zur großen Gruppe der halogenierten Alkane gehört, ist seit dem Ausgang des 19. Jahrhunderts Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen.

1847 wurde es zum ersten Mal als Inhalationsnarkotikum in der Humanmedizin verwandt (43), doch wurde es aufgrund seiner hohen Lebertoxizität -die gelbe Leberdystrophie nach CCl_4-Intoxikation war bereits zur Jahrhundertwende bekannt- zugunsten des Chloroforms fallengelassen. Kurz nach dem ersten Weltkrieg entdeckte man die vermifuge Wirkung des CCl_4, die besonders gegen Helminthen ausgeprägt war. Die Vetrinärmedizin verzichtete auf den Wirkstoff, als sich herausstellte, daß auch bei Tieren die hepatotoxische Nebenwirkung weit größer war als der therapeutische Nutzen.

Seit etwa 1925 begannen zahllose Untersucher, das pathomolekularbiologische Substrat der Noxe CCl_4 zu suchen. Es wurden bis heute vier Hypothesen aufgestellt, die den Wirkungsmechanismus des CCl_4 erklären sollten. Dies waren in chronologischer Reihenfolge:

1. die sogenannte "Phospholipidhypothese"
2. die sogenannte "Mitochondrienhypothese"
3. die sogenannte "Catecholamin-Hypothese" und
4. die sogenannte "Lipoperoxidations-Hypothese".

Bis auf die letztgenannte Hypothese (43) wurden alle anderen Hypothesen und Theorien ad acta gelegt.

Auf die einzelnen Hypothesen wird in der Diskussion ausführlich eingegangen.

Der recht gut bekannte Pathomechanismus der CCl_4-Schädigung ließ die Substanz geeignet erscheinen, zur Erzeugung eines "Zirrhosemodells" zu dienen, an Hand dessen man neue pharmakologische Wirkprinzipien und/oder chirurgische Behandlungsverfahren erproben könnte.

Dazu war es notwendig, eine ausreichende "Charakteristik" zu erarbeiten, die es erlaubt, bei späteren Versuchen

die Entwicklung der Erkrankung mittels kleiner Stichproben aus dem Versuchstierkollektiv zu verfolgen. Wir haben daher versucht, mit gängigen klinisch-chemischen Untersuchungsverfahren, wie sie in jedem Labor durchführbar sind, eine "CCl_4-Charakteristik" herauszuarbeiten. Ergänzt wurden diese Tests durch spezielle, der "chemischen" Verlaufskontrolle dienenden Untersuchungen wie der Bestimmung der Triglyceride und des Hydroxyprolins aus der Rattenleber.

Die Histologie sollte den "Wahrheitsgehalt" der Folgerungen aus den enzymatischen und chemischen Untersuchungen erweisen.

B MATERIAL UND METHODIK

I Tiermaterial und Versuchsbedingungen

Als Versuchstiere dienten 176 weibliche Wistarratten (28), verteilt auf acht Versuchsgruppen zu je zwölf Tieren und acht Kontrollgruppen zu je zehn Tieren. Die Tiere wurden in einem vollklimatisierten Raum mit konstanter Temperatur und Luftfeuchtigkeit in Käfigen zu je fünf bzw. sechs Tieren gehalten und erhielten Futter und Wasser ad libitum. Die Gesamtversuchsdauer betrug acht Wochen.

Den Versuchstieren wurde 1 ml CCl_4/kg Körpergewicht, 1:1 in Erdnußöl verdünnt, subcutan verabreicht; den Kontrolltieren 1 ml Erdnußöl/kg Körpergewicht. Appliziert wurde zweimal pro Woche nach vorheriger Wägung der Tiere.

Die erste Versuchs- und Kontrolltiergruppe wurde sieben Tage nach Beginn des Experimentes durch Dekapitation getötet, die folgenden Gruppen gleichfalls in wöchentlichen Abständen. Das Blut wurde in Zentrifugenröhren aufgefangen, schonend bei ca. 5000 U/min 3 min lang zentrifugiert, das Serum abpipettiert und sofort verarbeitet bzw. tiefgefroren. Die Applikation der Substanzen und die Tötung der Tiere wurden jeweils zwischen 10.00 und 11.00 Uhr durchgeführt. Zwischen letzter Applikation und Tötung lag ein Zeitraum von drei Tagen.

II Laboratoriumsmethoden

1 a) Enzyme

Die Enzymbestimmungen wurden mit fertigen Testsätzen durchgeführt, die wegen der Erfordernis, mit geringen Serummengen auskommen zu müssen, zum Teil modifiziert wurden. Die Messungen erfolgten am EPPENDORF^{R}-Photometer und, wenn nicht anders angegeben, bei einer Temperatur von 25° C. Die Schichtdicke betrug stets 1 cm.

Alkalische Phosphatase (AP)

(Optimierter kinetischer Test, Merckotest^{R} Nr. 3314)

In die Küvette werden pipettiert:

2,0 ml Puffer-Substrat-Gemisch, bestehend aus

10 mM p-Nitrophenylphosphat

0,5 mM $MgCl_2$

1,0 M Diäthanolamin-HCL-Puffer pH 9,8

0,02 ml Serum

Messung drei Minuten lang jede Minute bei 405 nm.

Glutamat-Oxalat-Transaminase (GOT)

(Modifizierte Schnellmethode, UV-Test, Merckotest^{R} Nr. 3323)

In die Küvette werden pipettiert:

2,0 ml Reagenslösung bestehend aus

0,1 M Phosphatpuffer pH 7,4

0,25 M L-Aspartat

10 mg MDH/l, 10 mg LDH/l

0,01 mM NADH + H^+

0,9 M Na-Ketoglutarat

0,1 ml Serum

Messung fünf Minuten lang jede Minute bei 344 nm.

Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT)

(Modifizierte Schnellmethode, UV-Test, Merckotest^{R} Nr. 3324)

In die Küvette werden pipettiert:

0,8 ml Reagenslösung, bestehend aus

0,1 M Phosphatpuffer pH 7,4

0,08 M DL-Alanin

10 mg LDH/l

0,1 M NADH + H^+

0,5 M Na-Ketoglutarat

0,2 ml Serum

Messung fünf Minuten lang jede Minute bei 366 nm.

Pseudo-Cholinesterase im Serum (PSCHE)
(Kinetischer Test, Merckotest^{R} Nr. 3337)
In die Küvette werden pipettiert:
2,0 ml Chromogenlösung, bestehend aus
0,02 M Phosphatpuffer pH 7,7
0,25 mM 5,5'- Dithiobis-2-nitrobenzoesäure
0,1 ml Substratlösung
0,12 M 5-Butyrylthiocholinjodid
0,01 ml Serum
Nach dem Durchmischen eine Minute warten bis zum Eintritt der linearen Extinktionszunahme, dann Messung der Zeit, in der die Extinktion um 0,100 zunimmt.

1 b) Gesamtbilirubin

Die Bestimmung des Gesamtbilirubins erfolgte mit dem Merckotest^{R} Nr. 3333.
Für die Analyse werden in die Küvette pipettiert:
0,1 ml Sulfanilsäure 2,9 x 10^{-2}M + 0,17 M HCL
0,01 ml Natriumnitrit 7,2 x 10^{-2}M
0,5 ml Accelerator, bestehend aus
Coffein 1,30 x 10^{-1}M
Na-Benzoat 1,56 x 10^{-1}M
Na-Acetat 4,6 x 10^{-1}M
0,1 ml Serum
Nach einer Unkubationsphase von 30 min bei 25^{o} C werden in das Reagensgemisch pipettiert:
0,5 ml Fehling II Lösung K-Na-Tartrat 9,3 x 10^{-1}M + 1,9 N NaOH.
Gut durchmischen und nach fünf Minuten die Extinktion bei 578 nm gegen einen Bindewert messen, der kein Natriumnitrit enthält.

1 c) Bromthalein-Retention (BSP-Retention)

Erforderliche Lösungen:
1. BSP-Lösung 5 %
2. 0,9 % NaOH

3. 0,2 N NaOH

Die Injektionslösung wird aus einem Vol.-Teil Lösung 1 und 1 Vol.-Teil Lösung 2 hergestellt. Im leichten Ätherrausch wird den zu untersuchenden Tieren mit einer scharf angeschliffenen Pipette retroorbital 1,0 ml Blut entnommen und 0,1 ml BSP-Lösung/kg Körpergewicht in eine Schwanzvene injiziert. Nach 45 min erfolgt die zweite retroorbitale Blutentnahme.

Meßansatz:

0,2 ml 0,2 N NaOH

0,1 ml Serum

Gemessen wird in der Durchflußküvette bei 578 nm, nachdem mit Wasser auf E=0 eingestellt ist.

1 d) Hydroxyprolin

Ca. 0,5 g frisch entnommenes Lebergewebe werden im Potter-Elvejhem-Homogenisator in 2,0 ml konz. HCl homogenisiert. Das Homogenat wird auf 5 ml mit konz. HCl aufgefüllt und zweimal je 1,0 ml bei 110° C im gut verschlossenen Rollerröhrchen zur ca. 15 Stunden dauernden Hydrolyse angesetzt. Anschließend Abdampfen der HCl, Aufnehmen der Proben in 1 ml Deionisiertem und destilliertem Wasser und erneutes Eindampfen zur Trockne. Jede Probe wird in 4,0 ml Wasser gelöst, mit einer großen Spatelspitze Aktivkohle versetzt und durch Aktivkohle präparierte Faltenfilter filtriert.

In die Küvette werden pipettiert:

1,0 ml Filtrat

1,0 ml Chloramin-T-Lösung, bestehend aus

420 mg Chloramin T

10 ml H_2O

15 ml n-Propanol

25 ml Pufferlösung

Die Pufferlösung ist zusammengesetzt aus

50 g Citronensäure

12 ml Eisessig

120 g Na-Acetat x 3 H_2O
34 g NaOH
H_2O ad 1000 ml

Der pH dieser Lösung sollte bei etwa 6,0 liegen. Die Pufferlösung ist im Kühlschrank unter Toluol etwa 14 Tage haltbar. Nach Schütteln des Ansatzes bleiben die Proben 20 min bei 25° C im Wasserbad stehen. Nach Hinzufüren von 1,0 ml 3,15 M Perchlorsäure wird für weitere 5 min bei 25° C inkubiert. Die Farbreaktion erfolgt mit 5 % p-Dimethyl-aminobenzaldehyd-Lösung. Dazu wird 1,0 ml Farbreagens zugesetzt und 18 min bei 60° C im Wasserbad inkubiert. Nach Abkühlen auf 25° C wird bei 550 nm gemessen. Die Bestimmung wird als Doppelbestimmung gegen einen Blindwert mit den Reagenslösungen durchgeführt. Vor jeder Meßserie wird eine Eichkurve mit Standardlösungen erstellt, die 1 - 10 mcg/ml enthalten. (Modifiziert nach 53)

1 e) Triglyceride

Die Bestimmung der Triglyceride aus dem Folch-Extrakt der Leber wurde freundlicherweise von den Mitarbeitern des Lipid-Laboers der Fa. Merck, Darmstadt, mit dem Autoanalyzer vorgenommen. (17, 23)

1 f) Lebergewicht/100 g Körpergewicht
1 g) Körpergewicht

(Zu diesen beiden Parametern siehe die Ergebnisdarstellung Seite 17.)

2 Histologische Verlaufskontrolle

Die Lebern aller Versuchs- und Kontrolltiere wurden nach üblicher Fixation in 5 % Formol und Aufarbeitung mit Hämatoxylin-Eosin sowie nach Goldner gefärbt. Jeweils drei Versuchstiere und ein Kontrolltier jeder Gruppe erhielten im Atherrausch eine intravitale Leberfüllung via V. Portae mit der

Tripelinjektionstechnik nach Wessel; auch diese Lebern wurden H.E. und Goldner-gefärbt (Tripel-Injektionslösung bestehend aus Mikropaque^{R}, Latex und Tusche). (51) Die hier wiedergegebenen Mikrophotogramme sind mit einem Agfachrome Professional L 50 Film aufgenommen worden. Die Standardvergrößerung beträgt ca. 92-fach, bei einigen Präparaten ca. 232-fach.

III Statistische Methoden

Die statistische Aufarbeitung der gesammelten Meßdaten wurde zum großen Teil (t-Test) dankenswerterweise vom Rechenzentrum der Fa. Merck, Darmstadt, übernommen. Der t-Test nach Student diente zur Analyse der Differenzen zwischen Versuchs- und Kontrollgruppen. Da ein Vergleich der Versuchsgruppen untereinander mit dem t-Test unmöglich ist, wurde eine varianzanalytische Schätzung durchgeführt (47). Sie sollte der Klärung der Frage dienen, ob ein im Kurvenverlauf dargestellter rechnerischer Maximal- und Minimalwert so signifikant von den vorhergehenden und nachfolgenden Werten verschieden ist, daß man tatsächlich ein rel. Maximum resp. Minimum vermuten kann. Bei der Interpretation der so gewonnenen Ergebnisse wird Vorsicht anzuwenden sein, da das hier angewendete stat. Verfahren nicht ganz unwidersprochen bleiben wird.

Zur Aufstellung der Wachstumskurven wurde die Paraboloid-Approximation verwandt (47). Die Signifikanzschranken der Student-Verteilung und die oberen Schranken der F-Verteilung entstammen den Wissenschaftlichen Tabellen Geigy (7. Auflage 1969).

In den Verlaufskurven sind bei den einzelnen Meßpunkten jeweils die errechneten Mittelwerte mit der zweifachen Standardabweichung vom Mittelwert angegeben ($\bar{x} \pm 2\ s$).

C ERGEBNISSE

1 Enzyme

a) GOT

Die GOT ist von der zweiten Versuchswoche an signifikant erhöht ($p < 0,05$) und bewegt sich um 100 - 110 mU/ml. (Abb. 1) In der vierten Woche werden zunächst 130 mU/ml erreicht. Am fünften Meßpunkt ist ein Abfall der Werte zu verzeichnen, die dann fast linear bis zum Ende der Untersuchungsperiode auf ca. 205 mU/ml ansteigen.

Wie die varianzanalytische Schätzung zeigt (Abb. 2), verläuft der GOT-Kurvenzug in drei Stufen: jede der drei Stufen ist signifikant von den beiden anderen unterschieden ($p < 0,05$). Es handelt sich bei Meßwert 4 nicht um ein rel. Maximum, wie man dem zeichnerisch-optischen Kurvenverlauf entnehmen könnte, sondern nur um einen zur zweiten Kurvenstufe gehörigen Meßpunkt, der sich nicht signifikant von Meßpunkt 3 bzw. 5 unterscheidet.

b) GPT

Der Kurvenverlauf der GPT bei den Versuchsgruppen zeigt signifikante Differenzen zu den Kontrollgruppen bereits vom ersten Meßpunkt an (Abb. 3, $p < 0,05$). Ausgehend von der 1 1/2 fachen Aktivität der Versuchsproben zu den Kontrollen am Meßpunkt 1 erreicht die GPT-Aktivität nach vorübergehendem Abfall in der zweiten Woche in zunächst linearem, dann sprunghaften Anstieg in der sechsten Woche ihren höchsten Wert. Hier beträgt die Aktivitätssteigerung mehr als das Doppelte der Kontrollwerte. In der siebten Woche ist ein Absinken der Aktivität festzustellen, die jedoch in der achten Woche mit dem doppelten Wert der Kontrollen wieder einen rel. Maximalwert erreicht.

Betrachtet man die varianzanalytische Schätzung (Abb. 4), so fällt ein stufenförmiger Verlauf der Aktivitätskurve auf: Der Sprung von der zweiten zur dritten Stufe -etwa in der 5.-6. Woche- führt zu einem wahrscheinlich vorhandenem Maximum im Verlauf der Meßpunktkurve: Meßpunkt 6

unterscheidet sich signifikant ($p \leq 0,05$) von den Meßpunkten 1-5 und 7-8.

c) PSCHE

Die PSCHE-Aktivität der Versuchstiere ist von der ersten Versuchswoche an signifikant vermindert (s. Abb. 5, $p \leq 0,05$). Sie beträgt die Hälfte der Kontrollen, nach drei Wochen noch etwa 1/3 der Kontrollwerte. Nach geringer Erholung und Wiederanstieg der Aktivität in der vierten Woche fällt die Aktivität der PSCHE unter 1/3 der Kontrollen ab. In der sechsten Woche stellt man einen erneuten vorübergehenden Aktivitätsanstieg fest, der in der siebten und achten Woche von einer unter 1/3 der Kontrollen liegenden Aktivität abgelöst wird.

Die Varianzanalyse zeigt, daß der Kurvenzug der PSCHE wahrscheinlich nicht zyklisch, sondern in Stufen seinen Tiefpunkt erreicht (Abb. 6).

d) AP

Der Aktivitätsverlauf der AP differiert von den übrigen gemessenen Enzymparametern (Abb. 7). Erst nach der dritten Woche ist die Erhöhung der Aktivität signifikant ($p \leq 0,05$). Paraboloid ist der Anstieg bis nach der vierten Woche, gefolgt von einem leichten Aktivitätsrückgang am fünften und sechsten Meßpunkt. In der siebten Woche schließlich wird ein rel. Höchstwert erreicht, der das 5-fache der Kontrollen übersteigt. Auffällig ist zu diesem Zeitpunkt die enorme Streuung der Einzelwerte, die zwischen 384 und 1289 mU/ml liegen.

Im Gegensatz zum t-Test zeigt die varianzanalytische Schätzung (Abb. 8) einen anderen Kurvenverlauf: Hier überschreitet bereits Meßpunkt 2 die Signifikanzschranke. Er ist von Meßpunkt 1 und den Meßpunkten 3-6 verschieden ($p \leq 0,05$), so daß man von einem rel. Maximalwert sprechen kann. Sowohl der Kurvenverlauf nach dem t-Test als auch die varianzanalytische Schätzung lassen eine dreiphasige Entwicklung vermuten. Nach 2-3 Wochen (Phase 1) befindet sich die

AP für ca. 3-4 Wochen auf einem annähernd gleich hohen Aktivitätsniveau, das das 3-fache der Kontrollen beträgt (Phase 2). In der dritten Phase (7.-8. Woche) tritt der zweite rel. Maximalwert auf.

2 a) Gesamtbilirubin

Die Verlaufsbeobachtung des Gesamtbilirubins ergab von der 2.-4. sowie von der 6.-8. Woche statistisch signifikante Abweichungen von den Kontrollen (Abb. 9, $p < 0{,}05$). Fünf Wochen lang ist eine gleichbleibende Erhöhung auf ca. den 2-fachen Kontrollwert zu verzeichnen. In der sechsten Woche wird die 1 mg-Marke erreicht und von drei Meßwerten überschritten. Nach sieben Wochen fällt das Gesamtbilirubin auf einen Wert wie während der vorausgegangenen Meßpunkte 1-5 ab, um nach der achten Woche wieder auf nahezu 1 mg anzusteigen. Auch zu diesem Zeitpunkt sind drei Meßwerte deutlich über 1 mg erhöht.

Varianzanalytisch wird die Signifikanzschranke nach der vierten Woche überschritten (Abb. 10, $p < 0{,}05$). Herausragend sind die Meßpunkte 6 und 8, die sich zwar nicht statistisch voneinander unterscheiden, aber so erheblich von den anderen differieren ($p < 0{,}05$), daß man zumindest Meßpunkt 6 für ein rel. Maximum halten kann. Nach Abb. 10 läßt sich ein dreiphasiger Bilirubinverlauf vermuten.

Ausdrücklich sei hier bemerkt, daß vom klinischen Standpunkt aus nur die Meßpunkte 6 und 8 "signifikant" sind, da sie allein die 1 mg-Grenze des Normalen erreichen bzw. mit einigen Meßwerten erheblich überschreiten. Zur Verlaufsbeobachtung erscheint es gerechtfertigt, alle Meßpunkte in die Betrachtung einzubeziehen: Es kommt nicht auf die Absolutwerte an, sondern auf das Verhalten des Bilirubins zu einem bestimmten Zeitpunkt im Vergleich zu den vorangehenden und den nachfolgenden Meßpunkten.

2 b BSP-Retention

Die Verlaufskurve der BSP-Retention zeigt nach drei Wochen einen linearen Anstieg, der in der 5.-7. Woche steiler wird und in der siebten Woche den höchsten Wert erreicht (Abb. 11). Wenig tiefer liegt Meßpunkt 8. Auffällig ist bei der BSP-Verlaufsbeobachtung die Tatsache, daß die Einzelwerte besonders ausgeprägt gegen Ende der Versuchsperiode streuen: z.B. liegen die Einzelmessungen bei Meßpunkt 5 zwischen 0,56 mg und 1,53 mg/100 ml, bei Meßpunkt 6 zwischen 0,82 und 4,48 mg/100 ml. Am größten ist die Streuung bei Meßpunkt 7: Die Werte reichen von 0,30 mg bis 7,84 mg/100 ml. Diese Streuung ist so erheblich, daß im t-Test keine Signifikanz zwischen Versuchs- und Kontrollgruppen zu berechnen war.

Die varianzanalytische Schätzung (Abb. 12) ergab einen paraboloiden Anstieg ab der vierten Woche. Die Varianzanalyse deckte von diesem Zeitpunkt an statistisch signifikante Unterschiede auf ($p \leq 0,05$).

3 Hydroxyprolin

Die Bestimmung des Hydroxyprolingehalts der Rattenleber begann nach der dritten Versuchswoche. Ein signifikantes Verhalten dieses Parameters war gegen Ende der Versuchsperiode anzunehmen. Die Meßreihen bestätigten diese Vermutung: Signifikanz ($p \leq 0,05$) erreichen die Daten nach der 7. und 8. Woche, in der Tendenz ansteigend (Abb. 13).

Varianzanalytisch ergeben sich keine neuen Gesichtspunkte (Abb. 14): Von der siebten Woche an überschreiten die Meßdaten die Signifikanzschranke ($p \leq 0,05$).

4 Triglyceride

Der Triglyceridgehalt der Leber ist bei Beginn des Versuches auf den 5-fachen Kontrollwert erhöht (Abb. 15). Sprunghaft steigen die Triglyceride nach drei Wochen auf das 8-fache an. Nach einem Abfall bei Meßpunkt 6 erreicht der Triglyceridgehalt nach der achten Woche seinen höchsten Wert, der fast das 13-fache des Normalkollektivs beträgt.

Die varianzanalytische Schätzung (Abb. 16) zeigt einen dreistufigen Verlauf: Die Mittelwertvarianzen der Meßpunkte 4 und 5 unterscheiden sich signifikant ($p \leq 0,05$) von den Punkten 1 und 2 sowie 7 und 8.

5) Relatives Lebergewicht

Von der ersten Messung an bestehen signifikante Unterschiede (Abb. 17, $p \leq 0,05$) zwischen Versuchs- und Kontrollgruppen. Die Erhöhung des rel. Lebergewichtes auf das ca. 1,25-fache der Kontrollen bleibt während fünf Wochen annähernd konstant. Nach der fünften Woche steigen die Versuchsdaten rapide an. Ein Absinken nach der achten Woche erweckt zeichnerisch-optisch den Eindruck eines rel. Maximums zum Zeitpunkt T_7.

Wie die varianzanalytische Schätzung (Abb. 18) jedoch zeigt, bewegen sich die Versuchswerte im Bereich bzw. knapp oberhalb der Signifikanzschranke. Nach der sechsten Woche ergibt sich ein im Trend linearer signifikanter Anstieg ($p \leq 0,05$).

6) Tiergewicht

Abb. 19 stellt das Tiergewicht in seinem Verhalten während der gesamten Versuchsdauer dar. Das Wachstum der Tiere in den Kontrollgruppen läuft annähernd funktionell ab; die Versuchstiere hingegen entwickeln sich erheblich langsamer und schlechter: Die Versuchswerte liegen zwischen der zweiten und der dritten Woche ($T_{2,5}$) signifikant ($p \leq 0,05$) unterhalb der Kontrollgruppe.

Besonders anschaulich werden die geschilderten Verhältnisse mit Hilfe der paraboloiden Approximation in Abb. 20 dargestellt: Die Wachstumsfunktion beider Testkollektive verläuft paraboloid, jedoch ist die Parabelfunktion der Versuchstiere wesentlich flacher und langsamer ansteigend.

7) Histologie

Normale Rattenleber (Abb. 21):
Die Abb. zeigt ein für alle Normaltiere repräsentatives Präparat: Die Tripelinjektionstechnik bringt alle Portalvenenabschnitte zur Darstellung. In der Übersicht ist die ungestörte Architektur der Lobuli gut zu erkennen. Die vereinzelt sichtbaren Nekrosen laufen im Rahmen der normalen Zellmauserung ab.

Nach 1 Woche (Abb. 22-23):
Nach einwöchiger Versuchsdauer imponieren Einzelzellnekrosen, die sich überwiegend zentrilobulär abspielen. Auffallend ist die hydropische Schwellung der Hepatocyten, ferner das schaumig anmutende Cytosol (Abb. 23). Zahlreiche nekrobiotische Zellen zeigen intranukleäre Einschlüsse. Vermehrt treten mononukleäre Elemente auf, vornehmlich in den Portalfeldern.

Nach 2 Wochen (Abb. 24-26):
Die oben beschriebenen Veränderungen sind deutlicher ausgeprägt: Portale und periportale mononukleäre Infiltration, Nekrose, zahlreiche Nuclei mit Einschlüssen.

Nach 3 Wochen (Abb. 27-30):
Einige Befunde fallen besonders auf: So die vor allem in zentralen und intermediären Lobulusabschnitten auftretende Steatose, die zu kugelförmigen Hepatocyten führt. Die mesenchymale Aktivierung ist fortgeschritten. In Abb. 30 sind Ductulussprossungen zu erkennen.

Im Vergleich zu den vorherigen Präparaten hat nach Ablauf von drei Wochen eine zweite Phase der CCl_4-Intoxikation eingesetzt, die charakterisiert ist von mesenchymaler Aktivierung (mononukleäre Infiltration, Ductulussprossungen) und einer erheblichen, vorwiegend zentral und intermediär ausgebildeten Steatose.

Nach 4 Wochen (Abb. 31-35):
Die kugelförmigen, mit Lipiden beladenen Zellen haben an Zahl und Größe zugenommen (Abb. 33-34). Die hepatozelluläre Destruktion erreicht mittlerweile die periportalen Läppchenabschnitte (Abb. 35). Die Zunahme an Bindegewebe zu diesem Zeitpunkt ist unverkennbar; feine schmale Septen, teils von den Portalfeldern, teils von der Zentralvene ausgehend, dringen ins Parenchym vor.

Nach 5 Wochen (Abb. 36-39):
Es haben sich keine neuen bedeutsamen Befunde ergeben. Es bietet sich ein bekanntes Bild. Allerdings scheinen die Einzelzellnekrosen an Häufigkeit abzunehmen. Die zentrilobuläre und intermediäre Verfettung tritt in den Vordergrund.

Nach 6 Wochen (Abb. 40-44):
Die Ductulussprossungen haben an Umfang zugenommen. Das Ausmaß der Läppchenzerstörung zeigen die Abb. 43 und 44 mit der Tripelinjektionstechnik: besonders Abb. 44 demonstriert das vermehrte Auftreten von periportalen Extravasaten. Die Lobulusstruktur ist weitgehend aufgelöst (Abb. 41, 42), das vordringende Mesenchym und die allmählich auch auf die periportal gelegenen Läppchenabschnitte übergreifende Steatose bestimmen das Bild.

Nach sechs Wochen tritt ein erneuter Wendepunkt in der Entwicklung der CCl_4-Schädigung ein: die zerstörerische Potenz von CCl_4 scheint abzunehmen und mesenchymale Reparationsvorgänge mit begleitender Steatose das Regiment zu übernehmen. Der Übergang von der zweiten in die dritte Schädigungsphase deutet sich an.

Nach 7 Wochen (Abb. 45-47):
Verfettung und septale Neubildung treten eindeutig in den Vordergrund. Die Lobulusstruktur ist nur noch schwach erkennbar.

Nach 8 Wochen (Abb. 48-53):

Diese Abb. zeigen das histologische Resultat des Experiments: Die Veränderungen laufen in Richtung auf eine Zirrhose ab, die auch von n = 4 Tieren erreicht wird. Abb. 53 ist ein repräsentatives Präparat für diese Gruppe. Bei den übrigen Versuchstieren waren bei n = 2 Tieren nonseptale Fibrosen, bei n = 5 Tieren septale Fibrosen festzustellen (Abb. 48-51). Bei den fibrotischen Lebern fällt die beträchliche Leberzellverfettung auf, die bis zur Entwicklung von Fettzysten reicht (Abb. 51, 52). Ductulussprossungen lassen die Portalfelder verbreitert und verzogen erscheinen. Bei den Zirrhoselebern umschließen die feinen bis mittelbreiten Septen kleine bis mittelgroße Regeneratknoten. Die hepatozelluläre Steatose tritt zurück.

Damit ist bei 11 überlebenden Versuchstieren von jedem dritten Tier das angestrebte Versuchsziel erreicht worden, nämlich nach acht Wochen eine Zirrhose durch subkutane CCl_4-Applikation auszulösen.

D DISKUSSION

Die histologischen Befunde ermöglichen wie die klinisch-chemischen Ergebnisse des Versuchs eine Dreiteilung des Schädigungsablaufs nach chronischer CCl_4-Intoxikation. Diese Entwicklungsstufen lassen sich schematisch beschreiben als

1. Phase der Nekrose
2. Phase der Fibrose
3. Phase der Zirrhose.

Allen gemeinsam ist die hepatozelluläre Steatose unterschiedlicher Ausprägung, die besonders in der zweiten Phase am deutlichsten hervortritt. Die hier beschriebenen histologischen Veränderungen stehen in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Untersucher, die ebenfalls einen drei- bis vierphasigen Verlauf angeben. So fanden RUBIN und Mitarbeiter (46) nach subkutaner Applikation von 0,15 ml CCl_4 in Mineralöl (zweimal/Woche) an 150 g schwere Inzuchtratten nach Ablauf von 10 Tagen eine erhebliche zentrilobuläre Nekrose, hydropische Leberzelldegeneration und mäßige intrazelluläre Lipidablagerung zentraler und intermediärer Lobulusabschnitte. Nach 20-65 Tagen war eine deutliche Zunahme an Bindegewebsfasern im Sinne einer Fibrose zu verzeichnen; die Nekrosen traten zurück; von den Portalfeldern aus proliferierten kleine Gallengänge. Die mesenchymalen Reparationsvorgänge erreichten nach 85-135 Tagen ihr Maximum mit der Ausbildung einer schweren septalen Zirrhose. In diesem Stadium nahm die Lipidakkumulation ab und machte einer aktiven Regeneration und Hyperplasie der Hepatocyten Platz.

Gleichfalls gut untersucht sind die elektronenmikroskopischen Veränderungen, die bei Langzeitzufuhr von CCl_4 zu beobachten sind. STENGER (50) verfolgte sie über einen Zeitraum von 35 Wochen. Dabei wurden nach subkutaner Applikation von 0,4 ml einer 50 % CCl_4-Lösung in Olivenöl sowohl in der präzirrhotischen als auch in der zirrhotischen Phase charakteristische Veränderungen beschrieben:

1. Strukturauflösung des Rauhen Endoplasmatischen Retikulums (RER) mit unterschiedlicher Dilatation der Canaliculi und Cisternae,
2. Auftreten von Lipidkörpern,
3. Zellbasophilie.

zu 1.) Der Untergang des RER geht einher mit einer Abspaltung der Polyribosomen von der endoplasmatischen Membran. Lichtoptisch erscheinen diese Zellen hydropisch degeneriert oder trüb geschwollen.
zu 2.) Die intrazellulären Lipidkörper weisen keine eigene Membran auf. Sie sind im Cytosol zu finden.
zu 3.) Die basophilen Zellen sind charakterisiert von einer erheblichen Proliferation des RER und einer Anhäufung von Polyribosomen.

Die in den Abb. 42-44 dargestellten Zellkernveränderungen entsprechen den von COSSEL (9) beschriebenen intranukleären Einschlußkörpern. Hierbei handelt es sich um intranukleäre Zytoplasmaeinstülpungen, die das Chromatin des Kerns auseinanderdrängen und zur Degeneration führen. Lichtoptisch sehen diese Zellen den sogenannten "Lochkernzellen" ähnlich: Dieser Kernveränderung liegen jedoch intranukleäre Glykogeneinschlüsse zugrunde, die sich elektronenmikroskopisch erheblich von den beschriebenen zytoplasmatischen Kerneinschlüssen unterscheiden.

Die erörterten Langzeitbeobachtungen nach CCl_4- Schädigung werden ergänzt durch histologische Untersuchungen der Frühphase, die den Zeitraum von etwa 1/2 Stunde bis zu 3 Tagen umfaßt: HOFFMAN und Mitarbeiter (26) schildern die lichtoptischen Veränderungen nach 1, 2, 3, 4 und 5 Tagen. Ihre Ergebnisse sind vergleichbar den von (46) erhobenen Befunden. LEDUC und WILSON (31) führten die ersten histologischen Untersuchungen an Mauslebern 15 min nach CCl_4-Applikation durch und beendeten ihre Versuchsreihe nach 48 Stunden. Bereits in dieser frühen Phase treten Veränderungen ein, wie sie hier ausführlich nach (50) beschrieben wurden. SMUCKLER (49) erhärtete die von (50) beobachteten Veränderungen. Auch er weist

dem endoplasmatischen Retikulum als primärem Angriffspunkt der Noxe CCl_4 eine zentrale Bedeutung zu.

Während die histologischen Veränderungen nach CCl_4-Vergiftung im Langzeitversuch in zahlreichen Veröffentlichungen ihren Niederschlag gefunden haben (1, 10, 14, 15, 27, 34, 35), liegen Untersuchungen über laborchemische Parameter nur über die ersten Stunden und Tage nach CCl_4-Verabreichung vor (5, 13, 25, 26, 27, 44, 55).

---Die eigenen enzymatisch-chemischen Beobachtungen (32), die ebenso wie die vorgelegten histologischen Befunde an einen dreiphasigen Schädigungsablauf denken lassen, sind in unterschiedlichem Ausmaß für die einzelnen Stadien charakteristisch:

-----Die Transaminasen sind im ersten Stadium, das etwa zwei bis drei Wochen andauert, wenig aussagekräftig. Offensichtlich ist die Schädigung bereits subakut geworden, denn in der Intitialphase (1/h - 3 d post intox) sind deutliche GOT/GPT-Veränderungen sichtbar. DINMAN und Mitarbeiter (13) beschreiben zwei GOT-Gipfel nach Ablauf von 24 und 48 Stunden. Auch REES und SINHA (44) fanden nach 24 Stunden eine maximale GOT-Erhöhung. Interessant ist die in der Literatur niedergelegte Beobachtung, daß zu diesem Zeitpunkt der Schädigung sich nicht alle mikrosomal lokalisierten Enzyme sinchron verhalten. Deutliche Unterschiede gibt es im Verhalten zwischen den Enzymen, die membranfixiert und nicht durch organische Lösungsmittel solubel sind (z.B. Cytochrom-c-Reductase) und jenen, welche leicht durch oberflächenaktive Substanzen solubisiert werden können (z.B. Glucose-6-Phosphatase (25). Diese Untersuchungen lassen den Schluß zu, die mikrosomale Zellfraktion sei der primäre Ort des CCl_4-Angriffs. Die Transaminasen als vorwiegend mikrosomale Enzyme sind typischerweise sehr früh (in der Initialphase) erhöht. Dieses Verhalten kann bei Messungen in der subakuten Schädigungsphase (1-3 Wochen post intox.) nicht beobachtet werden, wie es in dieser Arbeit geschehen ist.

Die enzymatische Charakteristik der Initialphase ist für das Verständnis des molekularbiologischen Pathomechanismus der CCl_4-Schädigung wesentlich, auf den ich später noch eingehen werde.

Im Gegensatz zu den Transaminasen ist das Enzymmuster AP/PSCHE für die erste Schädigungsphase signifikant: Dem paraboloiden (rel. maximalen) AP-Anstieg entspricht ein deutlicher PSCHE-Abfall.

Die übrigen von mir dargestellten nicht-enzymatischen Parameter sind für die Charakterisierung der ersten Schädigungsphase praktisch bedeutungslos. Erwähnenswert ist nur der erhebliche Triglyceridanstieg auf das 4-5-fache der Kontrollen.

Im Verlauf des zweiten Stadiums, das etwa von der 2./3. bis zur 6./7. Woche reicht, ist nur das Verhalten der Triglyceride auffallend: Vom ca. 4-5-fachen des Normalwertes steigen sie nach drei Wochen auf das achtfache an. Dieser Befund korreliert gut mit den histologischen Ergebnissen, die während des angegebenen Zeitraums eine zunehmende Leberzellverfettung zeigen.

Der Übergang von der zweiten in die dritte Phase deutet sich in der 6./7. Woche an: Die GPT erreicht nach 6 Wochen ein Maximum, ebenso das Gesamtbilirubin. Mit einwöchiger Verzögerung steigt nach 7 Wochen die AP maximal an, die PSCHE sinkt auf ihren Tiefpunkt ab. Der Triglyceridgehalt der Leber hat einen steilen Aufwärtstrend zu verzeichnen, der die in der zweiten Phase gemessenen Werte signifikant übersteigt. Das ab der 6. Woche meßbar erhöhte Hydroxyprolin zeigt mit seinem signifikanten Anstieg nach der 7. Woche die erhebliche Kollagenvermehrung an.

Die BSP-Verlaufskurve ist für keine Schädigungsphase charakteristisch, weil keine statistische Aussage von einiger Zuverlässigkeit gemacht werden konnte. Die Betrachtung der gemessenen Einzelwerte läßt vermuten, daß die BSP-Retention ein

empfindliches Meßinstrument sein könnte, wenn die Anzahl der zu testenden Tiere genügend groß ist (15 - 20 Versuchstiere): Die Einzelwerte divergieren als Ausdruck der unterschiedlich ausgeprägten Stoffwechselschädigung von der ersten Woche an so erheblich, daß eine frühzeitige "Klassenbildung" in Gruppen vergleichbarer Reaktionsintensität auf CCl_4 wahrscheinlich ist.

Die Bestimmung des rel. Lebergewichts ist nach den vorliegenden Meßergebnissen für die CCl_4-Charakteristik unbrauchbar.

Wie die Tiergewichtskurven eindrucksvoll zeigen, sind bei der Interpretation von enzymologischen- und Stoffwechselparametern die systemischen Einflüsse des CCl_4 nicht zu vernachlässigen; die erhebliche Entwicklungsverzögerung der Versuchstiere deutet darauf hin. Zur Klärung dieser Frage müßten ausführliche Stoffwechselstudien betrieben werden. Hingewiesen sei hier kurz auf die Ergebnisse von BRODY und anderen (2, 3, 4), die in CCl_4 ein Stress erzeugendes Agens sahen, das die Serumspiegel der Catecholamine und der Corticoide signifikant erhöhte. Ob andere humorale Einflüsse seitens der Threoidea und der Gonaden eine Rolle spielen, ist z.Zt. wenig bekannt(1).

Für die Charakteristik der CCl_4-Schädigung kommen nach den vorliegenden Ergebnissen vor allem AP, GOT, GPT, PSCHE und Bilirubin in Betracht, die sich an den Wendepunkten zum nächsten Stadium auffällig verhalten. Die Triglycerid- und Hydroxyprolinbestimmung unterstreicht in hervorragender Weise den lichtoptisch dargestellten Schädigungsverlauf.

Zur Frage der CCl_4-Charakteristik im Langzeitversuch mittels klinisch-chemischer Methoden liegen zur Zeit keinerlei Ergebnisse anderer Untersucher vor. Dies liegt darin begründet, daß zunächst der Pathomechanismus der CCl_4-Wirkung im Vordergrund der Betrachtung stand. Wie bereits in der EINLEITUNG (Seite 4) ausgeführt, stieß man bei der medizinischen Verwendung des CCl_4 auf seine ausgeprägte Hepatotoxizität. Im Laufe dieses Jahrhunderts wurden bislang vier Hypothesen aufgestellt, die den Wirkungsmechanismus des CCl_4 erklären sollten. Bis auf die Lipoperoxidationshypothese werden die übrigen drei zur Zeit nicht mehr diskutiert (43).

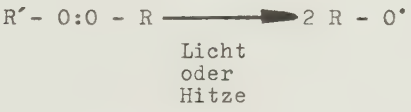
Bis 1948 spielte die sogenannte "Phospholipid-Hypothese" eine wichtige Rolle. Sie ging davon aus, daß die nach CCl_4-Schädigung beobachtete Leberzellverfettung ihre Ursache in einer gestörten Phospholipidsynthese und damit einem unterbrochenen Fettransport habe, was zu einer intrazellulären Anstauung von Triglyceriden führen sollte. Nach 1943 brach diese Hypothese zusammen, als man das Lipoproteinsystem als Transportsystem der Fettsäuren erkannte (16, 33).

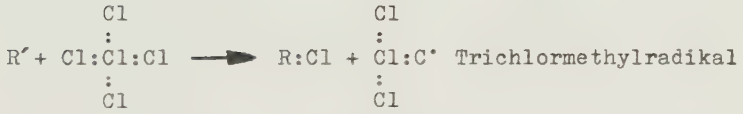
Von 1954-1960 überwog dann die sogenannte "Mitochondrienhypothese", nachdem beobachtet worden war, daß schon 10-15 h nach CCl_4-Intoxikation der Zitronensäurezyklus und die oxydative Phosphorylierung zusammenbrachen. Die Fettanhäufung der so geschädigten Zellen sollte daher auf einem Mangel an ATP beruhen, das für die Aktivierung der Fettsäuren von entscheidender Bedeutung ist (7, 12).

Von 1959 an wurde auch die sogenannte "Catecholamin-Hypothese diskutiert, die den primären Angriffspunkt von CCl_4 ins Gehirn verlegte: Die CCl_4-bedingten Einflüsse auf das sympathische Nervensystem sollten zu einer verminderten Leberperfusion mit nachfolgender zentrilobulärer Hypoxie (Nekrose) führen. Eine vermehrte periphere Lipidmobilisation sollte die Leberzellverfettung induzieren (2, 3, 4).

Die heute noch aktuelle sogenannte "Lipoperoxidations-Hypothese" wurde 1964 von WINTSCHAFTER und CRONYN (52) aufgestellt. Das organische Lösungsmittel CCl_4 ist aufgrund

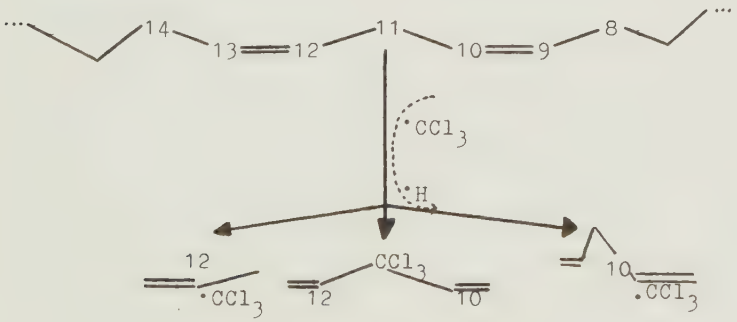
seiner chemischen Struktur und seines energetischen Zustands in einem Angriff durch Radikale leicht selbst in ein Trichlormethanradikal zu verwandeln. Solche Radikale entstehen intrazellulär z.B. beim Auseinanderbrechen von Peroxydbindungen:



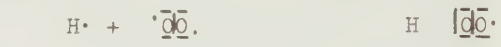


Radikale reagieren überaus rasch mit Mehrfachbindungen, z.B. einer langkettigen Fettsäure. Am Beispiel eines Linolylrestes sei dies demonstriert (38):

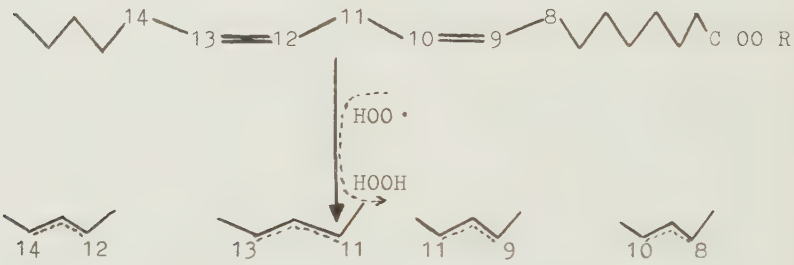
^{9,12}- Octadecadienyl (Linolyl)-Rest:



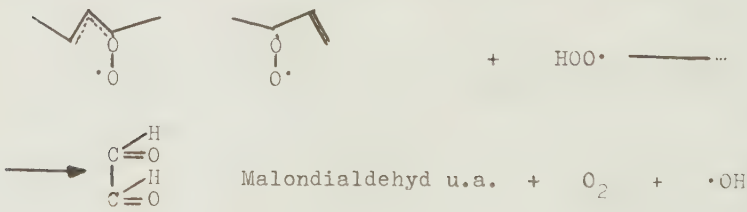
Die bei diesem Spaltungsvorgang freiwerdenden H· - Radikale werden intrazellulär von Radikalfängern unschädlich gemacht, wahrscheinlich bevorzugt vom paramagnetischen Sauerstoff:



Wenn dieses Radikal nun mit Fettsäureresten reagiert, dann entstehen als Endprodukte der Reaktionskette Malondialdehyd und Aldehyde anderer Struktur:



Über hyperkonjugierte Zwischenprodukte und O_2:



Der hier beschriebene Reaktionsprozeß mit CCl_4 nach dessen Metabolisierung zum Radikal läuft vor allem intrahepatozellulär ab. Betroffen sind die Membranen des RER, die besonders reich sind an Lipoproteinen und damit an polyungesättigten Fettsäuren (8, 22, 24, 36, 37, 40, 41, 42). Der wie eine Kettenreaktion explosionsartig ablaufende Destruktionsprozeß führt zur elektronenmikroskopisch bereits nach 1/2 h sichtbaren Membranauflösung und deutlicher Schwellung und Dilatation der Canaliculi und Cisternae des RER (50).

CCl_4 hat außer der hier beschriebenen Eigenschaft, leicht Radikale zu bilden, die bekannte Funktion eines guten organischen Lösungsmittels. Daher werden zunächst die Enzyme, die leicht solubel sind (wie Glucose-6-Phosphatase, Transaminasen) eine Funktionseinbuße erfahren, während die nicht oder schwer solubisierbaren Fermente (wie Cytochrom-c-Reductase) eine längere "Überlebenszeit" haben (25).

Erst nach 10-15 h sind die mitochondrialen Membranen betroffen. Der Zerstörungsprozeß schreitet fort und führt schließlich zur Nekrose. Wesentlich für den Geschwindigkeitsablauf des Zelluntergangs ist der intrazelluläre Gehalt an Radikalfängern wie paramagnetischem Sauerstoff und dem Gluthathion-System (48, 54). Je geringer die Radikalfängerkapazität der Zelle ist, desto ausgeprägter sollte die Zellschädigung sein. Das entspricht den vorliegenden Befunden, denn die ersten Zellnekrosen treten zentrilobulär auf, der Zone drei nach RAPPAPORT (39). Der Zone drei wird die schlechteste Sauerstoffversorgung zugeschrieben.

Beweisend oder zumindest als Indiz für den Radikalmechanismus der CCl_4-Wirkung wäre der Nachweis von nur durch CCl_4-Einwirkung erklärbaren Lipoproteinspaltprodukten bzw. des Dimers Hexachloroäthan C_2Cl_6. FOWLER gelang nach langer Vorarbeit zum ersten Mal der direkte Nachweis dieses Dimers in CCl_4-geschädigten Kaninchenlebern (18, 19, 20, 21). Die Ausbeute betrug 6 h post. intox. 1,6 $\pm$ 0,5 ng/g, nach 24 h 4,2 $\pm$ 1,8 ng/g C_2Cl_6-Konzentration in der Leber. Im Fettgewebe konnten nach 6 h 4,1 $\pm$ 1,2 ng/g und nach 24 h 16,5 $\pm$ 1,6 ng/g gemessen werden.

Naturgemäß sind außer enzymatischen und lipoidalen Veränderungen auch Störungen anderer Stoffwechselvorgänge, z.B. im Proteinstoffwechsel bekannt (6, 21, 29, 30).

Von den genannten Hypothesen erklärt die "Lipoperoxidations-Hypothese" den Pathomechanismus der CCl_4-Schädigung am besten. Die eigenen Untersuchungen unterstützen diese Auffassung: Die Leberzellnekrose tritt zunächst in den zentrilobulären Abschnitten auf, einem Bereich der schlecht mit Sauerstoff versorgt ist (39). Damit ist das Radikalfängerpotential vermindert, die Resistenz des Hepatocyten gegen CCl_3-Radikale herabgesetzt. Die explosionsartige Enzymfreisetzung während der ersten Stunden nach CCl_4-Intoxikation ist daher verständlich. Wahrscheinlich addieren sich zu diesem Zeitpunkt der Enzymaustritt der nekrotisierten Zellen und die vermehrte Enzymproduktion membrangeschädigter Zellen, so daß sehr hohe Enzymspiegel im Serum zu messen sind. Die peripher gelegenen Lobulusabschnitte, deren Radikalfängerpotential ca. 3 Wochen lang dem CCl_4-Angriff Widerstand leistet, werden demnach später (nach 4-6 Wochen) in Mitleidenschaft gezogen (siehe Transaminasenverlauf). Wie die Verläufe der PSCHE, des Bilirubins und der BSP-Retention zeigen, ist zwar die Syntheseleistung der Leberzellen nach drei Wochen erheblich eingeschränkt (PSCHE), doch reicht die Restkapazität der intermediären und peripheren Lobulusanteile aus, einen Stoffwechselzusammenbruch zu verhindern, der nach 6-7 Wochen eintritt (Bilirubin, BSP). Diesen schwersten Schädigungsverlauf wiesen die 4 Tiere auf, die am Ende des Versuchs eine Zirrhose entwickelt hatten. Was auch für den hier erörterten Pathomechanismus der CCl_4-Wirkung spricht, ist die von REUBER und GLOVER (45) beschriebene Beobachtung, daß die CCl_4-Zufuhr während der gesamten Versuchsdauer nicht unterbrochen werden darf. Anderenfalls ist wenigstens bei einem Teil der Versuchstiere mit einer Rückbildung der Veränderungen zu rechnen.

E ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde der Versuch unternommen, mit klinisch-chemischen Untersuchungsmethoden eine "Charakteristik" der CCl_4-Schädigung zu erarbeiten.

Als brauchbar erwiesen sich Transaminasen, Pseudocholinesterase, Alk. Phosphatase, Bilirubin sowie die Triglycerid- und Hydroxyprolunbestimmung. Die Verlaufskurve der BSP-Retention war nur mit Einschränkungen zu verwerten, da aufgrund erheblicher Streuungen innerhalb der Versuchsgruppen keine zuverlässige statistische Aussage gemacht werden konnte. Für diesen Parameter ist jedoch eine hohe Aussagekraft bei größerer Versuchstierzahl zu erwarten. Wahrscheinlich läßt sich mit Hilfe des BSP-Tests das Schicksal einzelner Versuchstiere innerhalb ihrer Gruppe recht gut verfolgen. Die Bestimmung des rel. Lebergewichts war für die Charakteristik unbrauchbar. Es wurde darauf hingewiesen, daß die Interpretation enzymologischer und chemischer Parameter stets mit großer Vorsicht zu erfolgen hat, da die systemischen Auswirkungen der Noxe CCl_4 erheblich sind.

Der beschriebene molekularbiologische Pathomechanismus führt über die schon nach einigen Stunden einsetzende zentrilobuläre Nekrose nach frühestens acht Wochen zur Zirrhose.

Die hier vorgelegten Untersuchungen charakterisieren den Verlauf der Langzeitintoxikation recht gut. Das CCl_4-Modell erscheint geeignet, nach Ausbildung der Zirrhose neue chirurgische und pharmakologische Therapieverfahren zu erproben. Zur Klärung der noch offenen Fragen sind weitere Untersuchungen erforderlich.

mU GOT / ml Serum

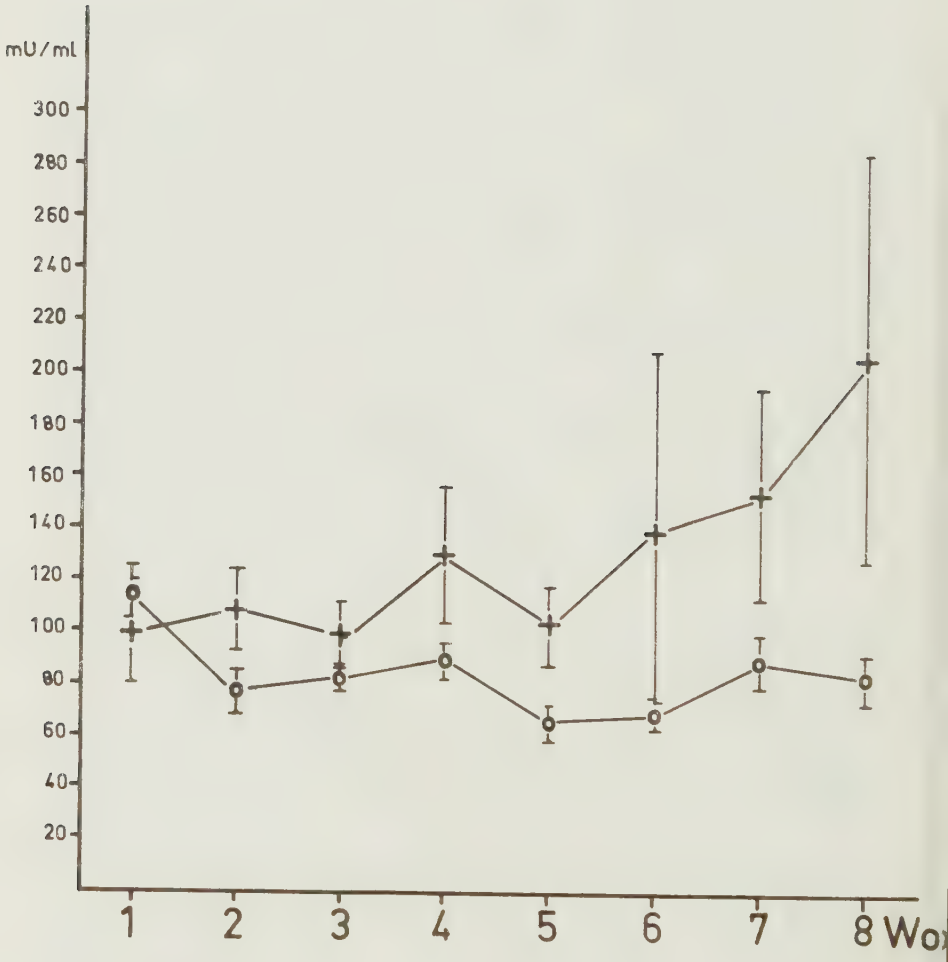


Abb. 1

Abb. 2

mU GPT / ml Serum

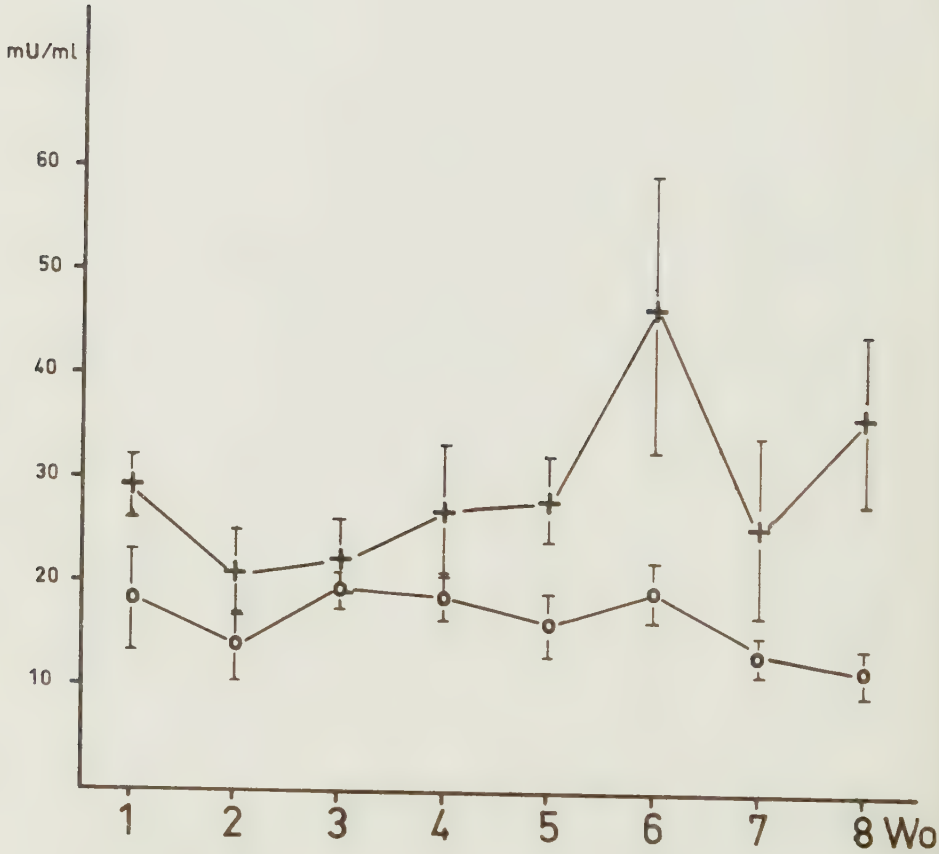


Abb. 3

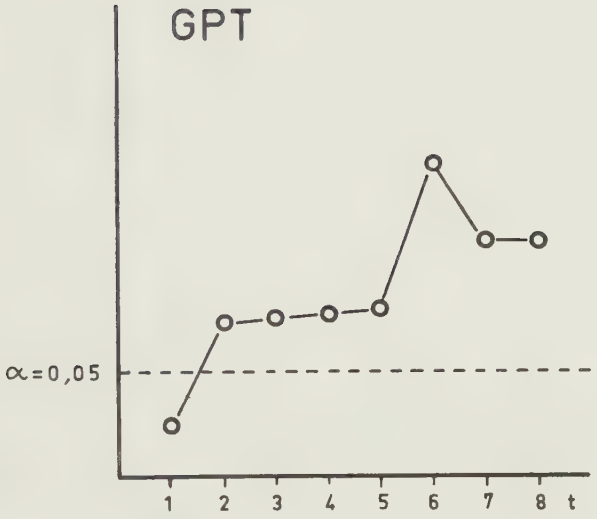


Abb. 4

mU Pseudocholinesterase/ml Serum

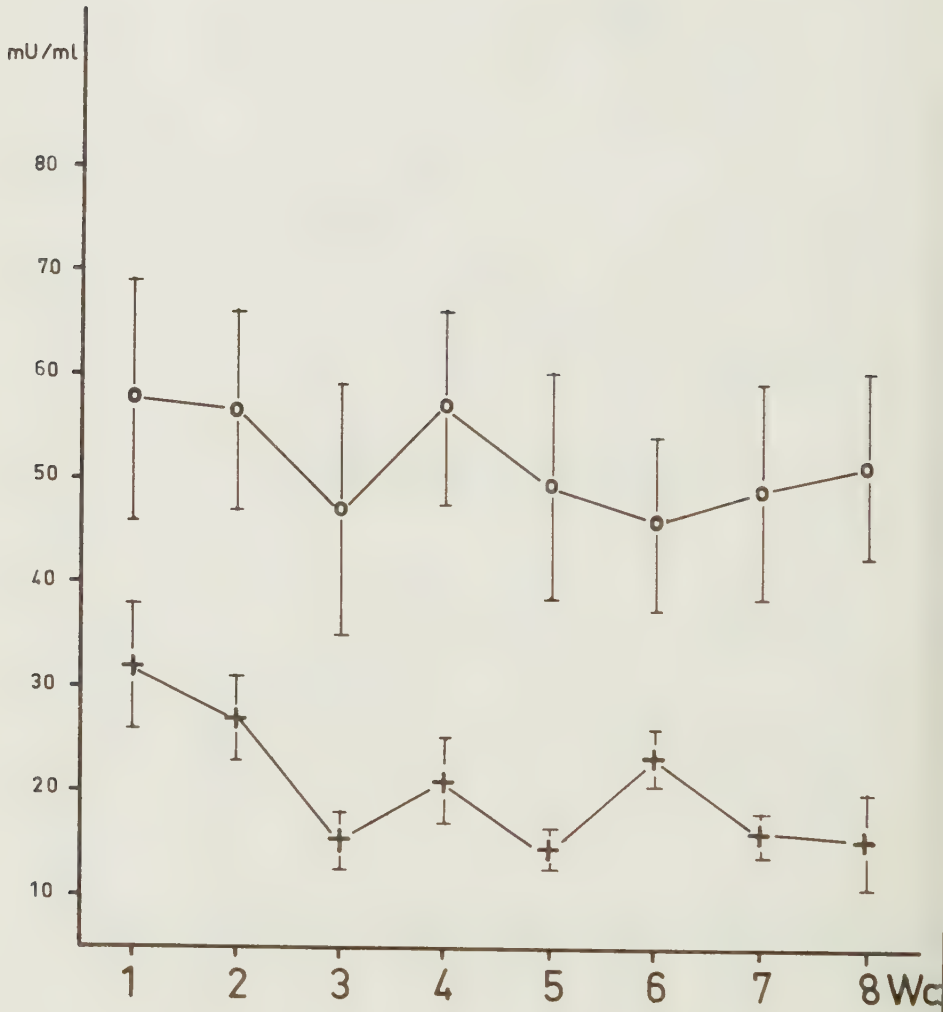


Abb.5

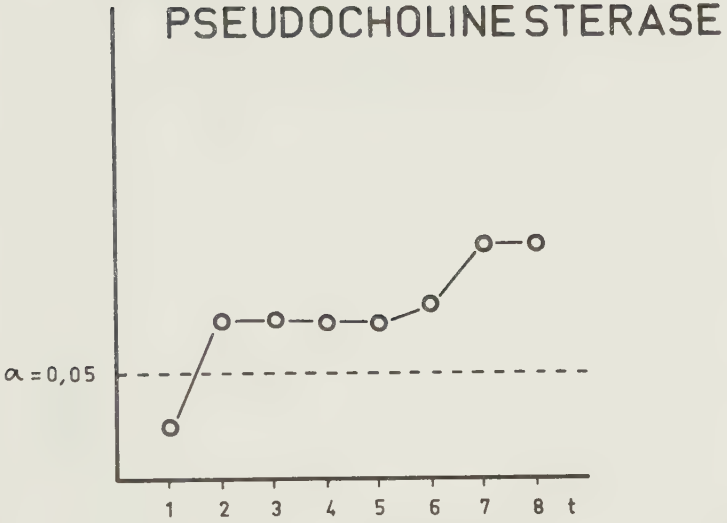


Abb. 6

mU alk. Phosphatase / ml Serum

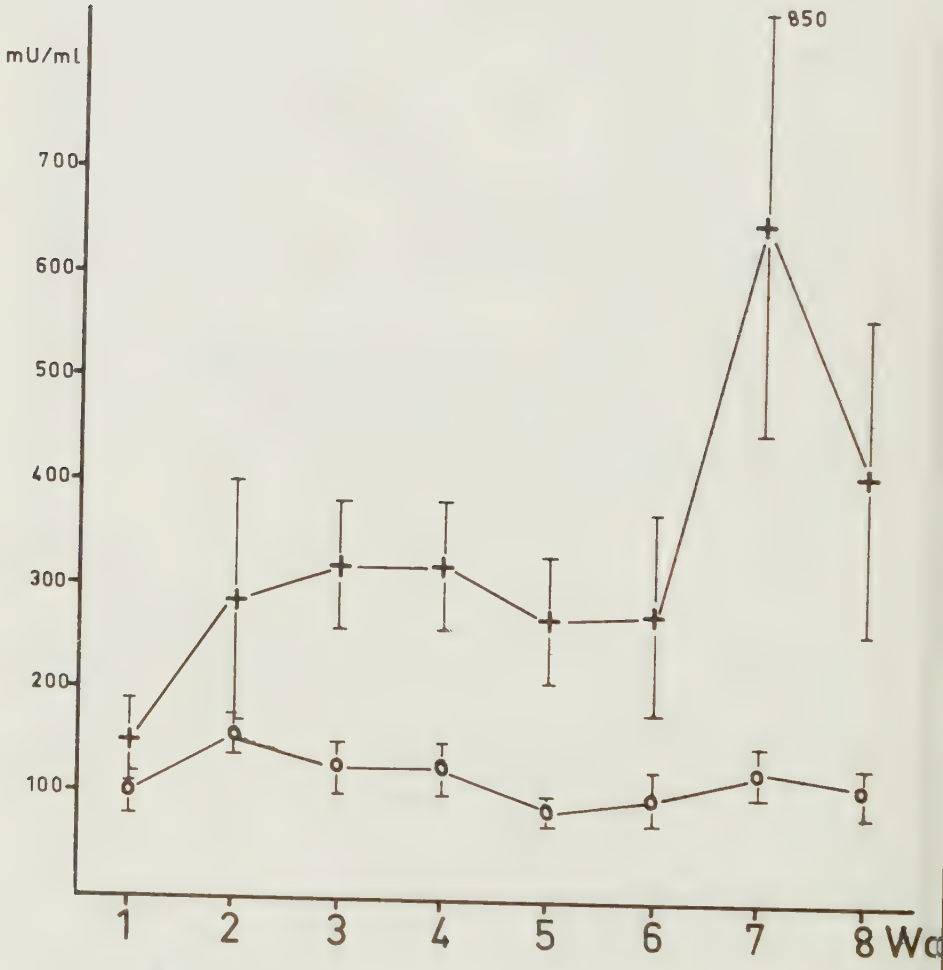


Abb. 7

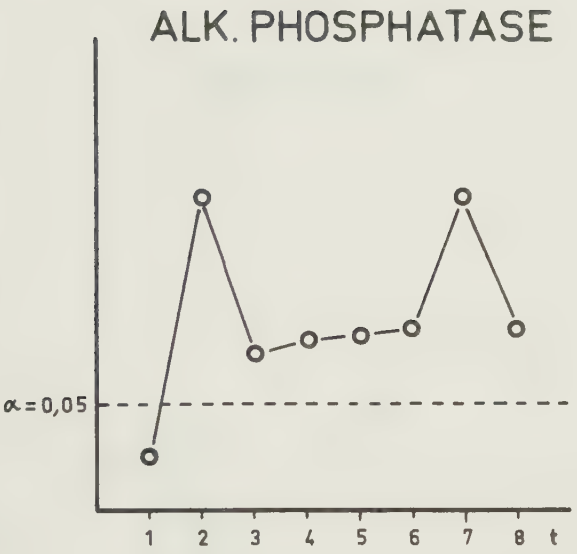


Abb. 8

mg BILIRUBIN / 100 ml Serum

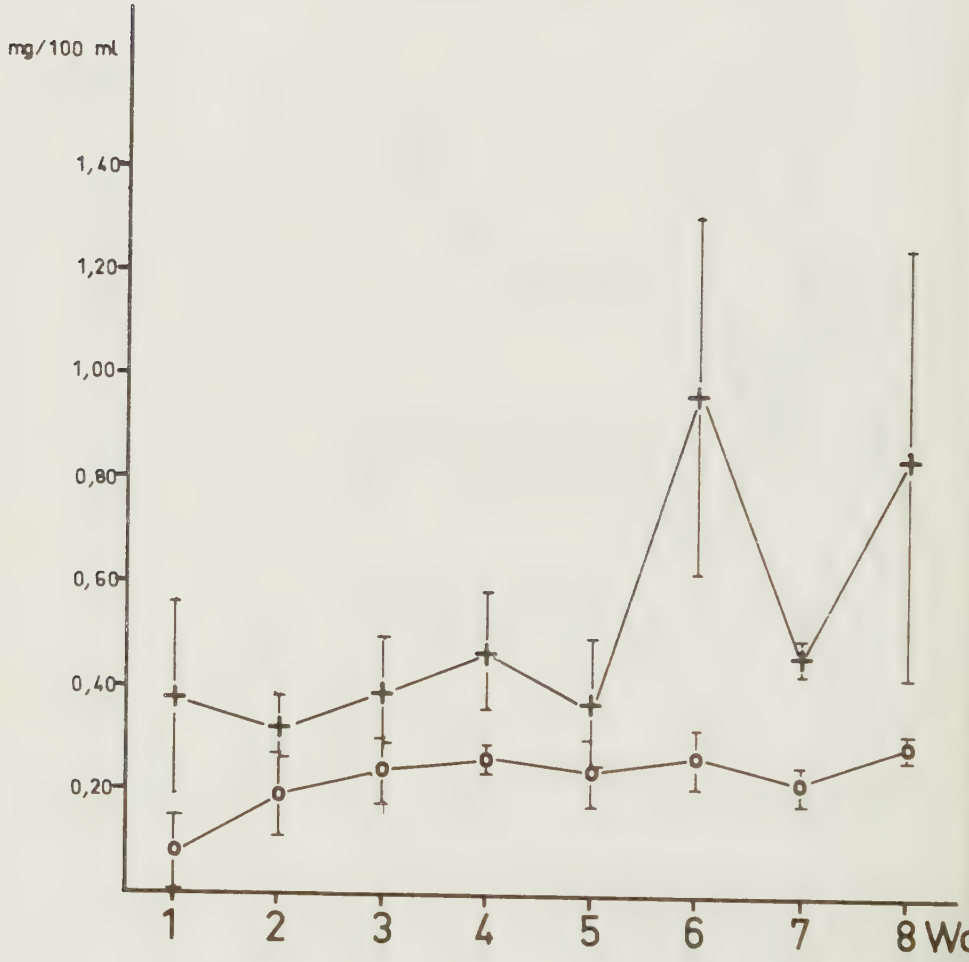


Abb. 9

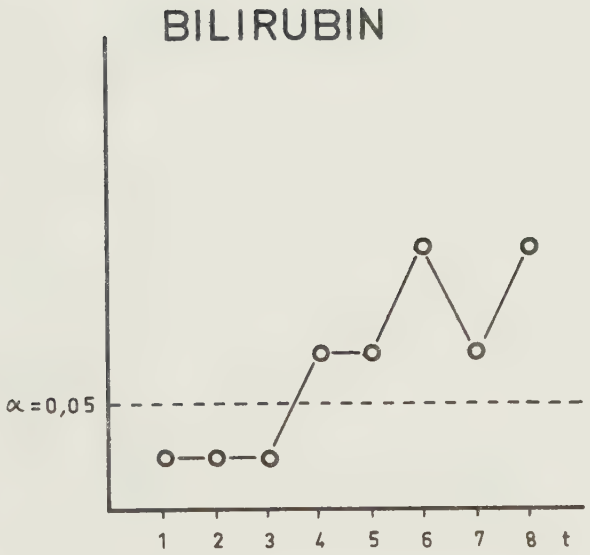


Abb. 10

BSP-RETENTION mg/100 ml

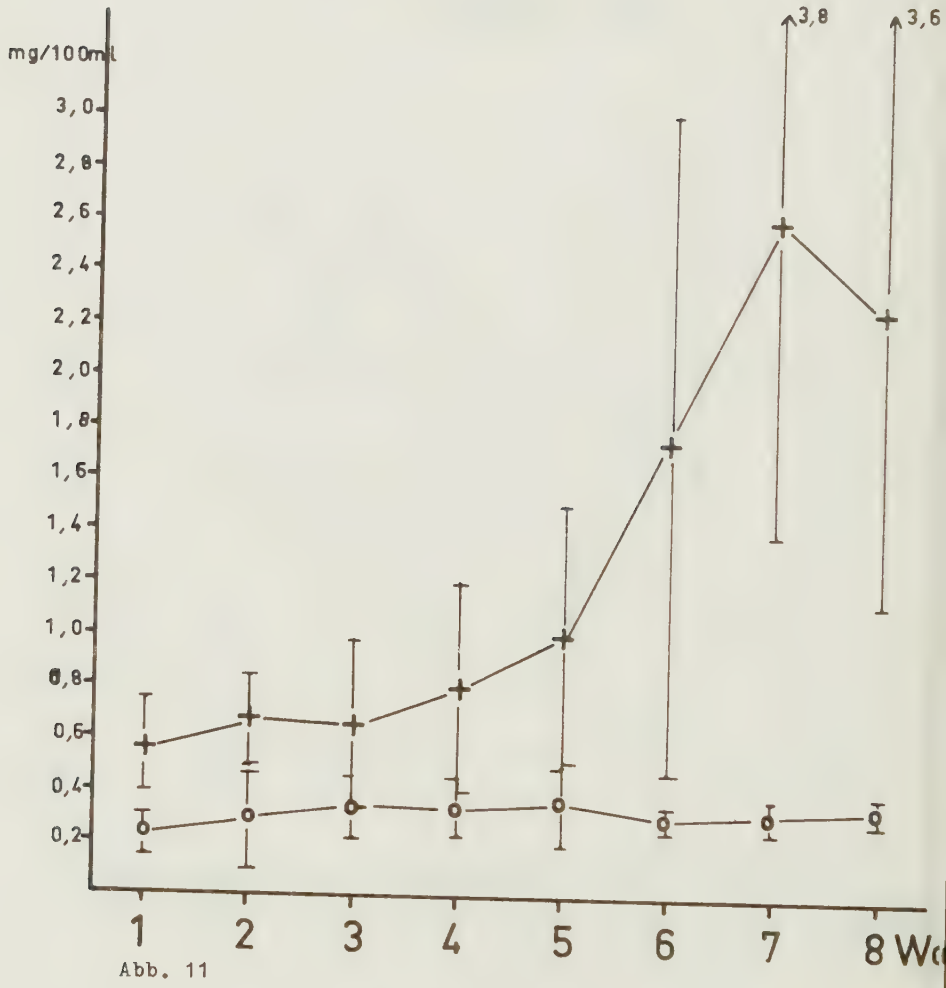


Abb. 11

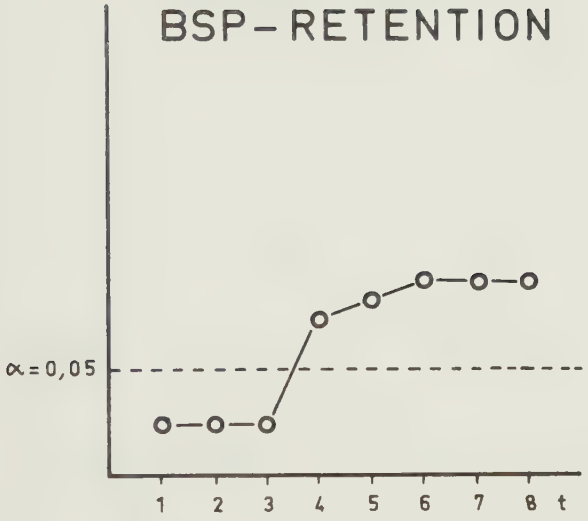


Abb. 12

µg Hydroxyprolin/g Leberfrischgewicht

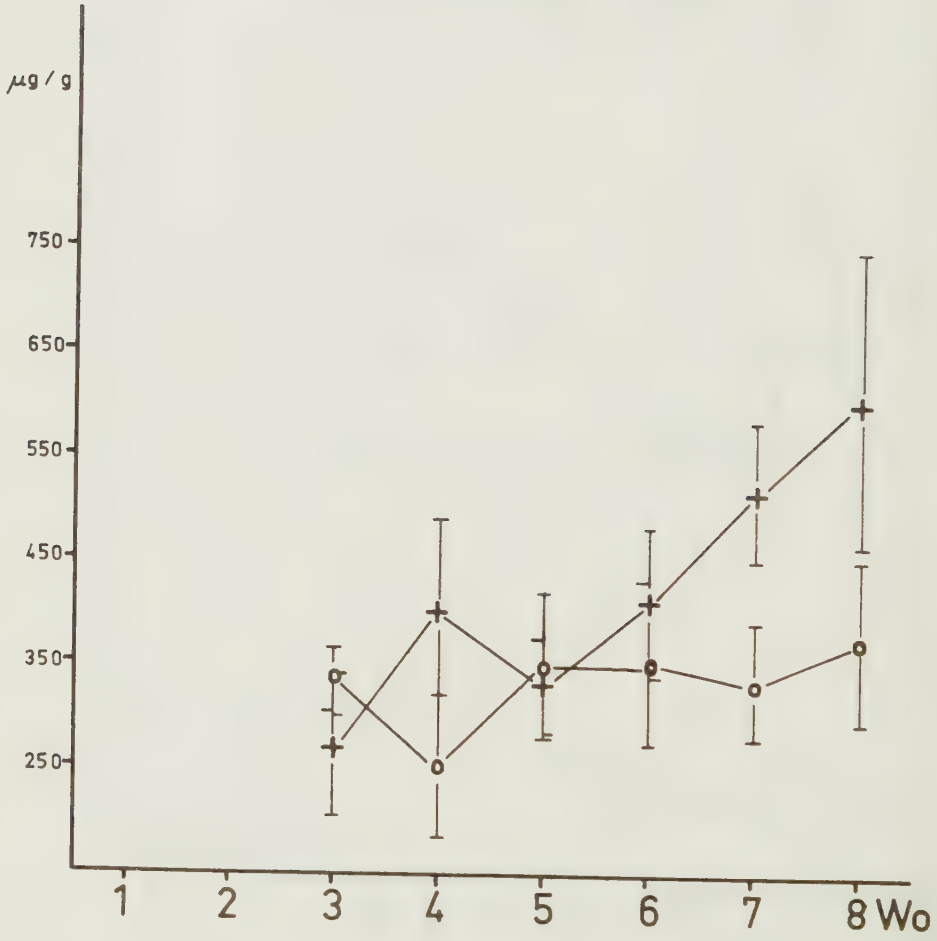


Abb. 13

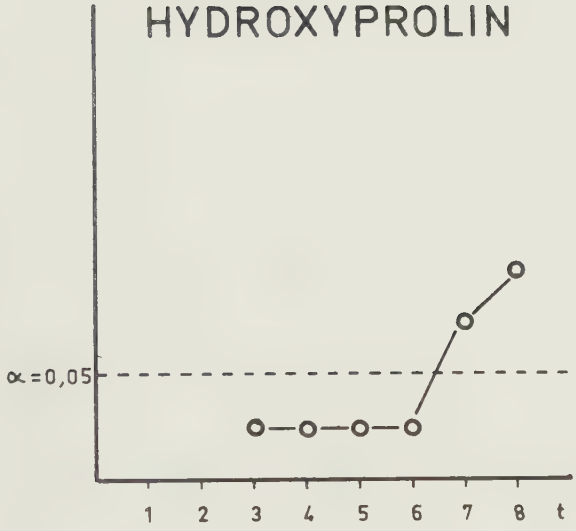


Abb. 14

mg Triglyceride /g Lebertrockengewicht

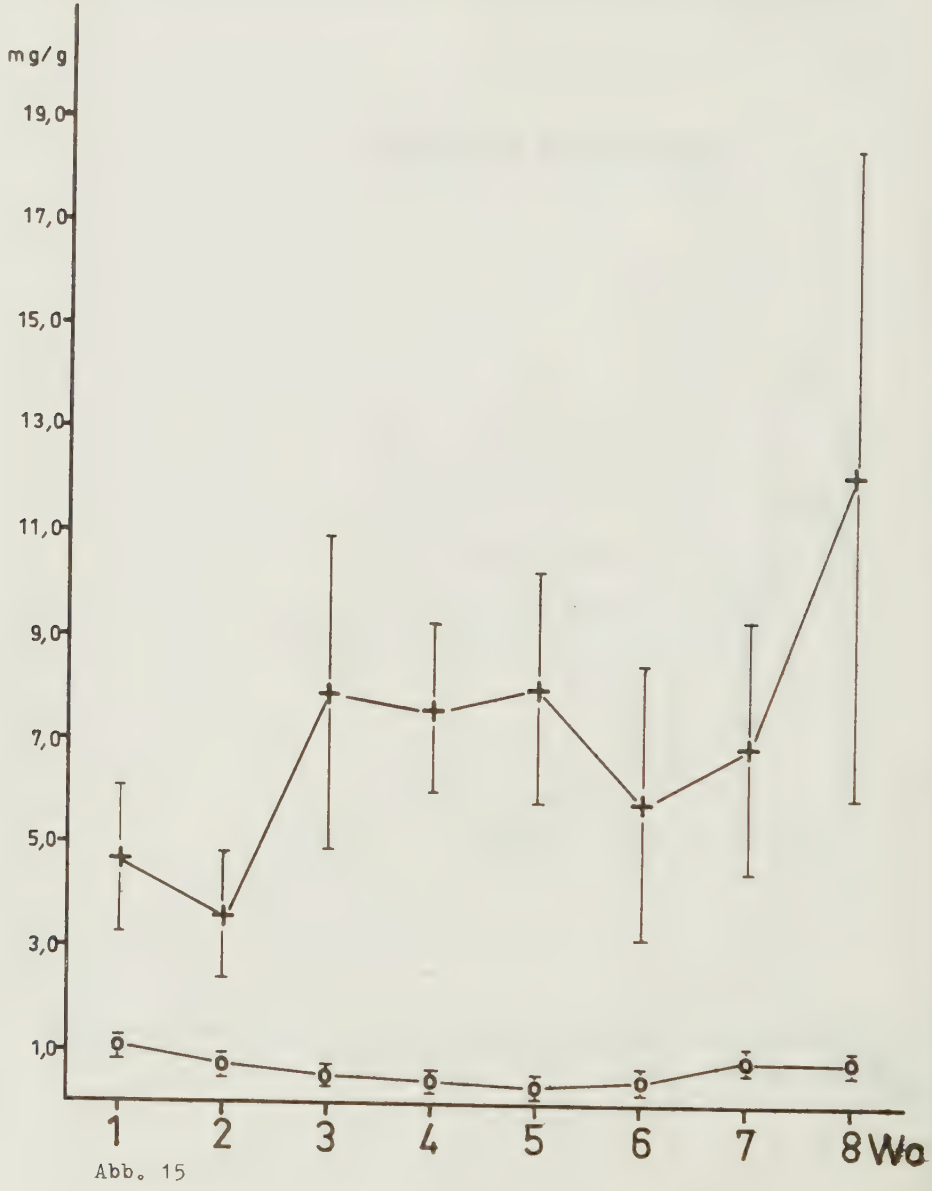


Abb. 15

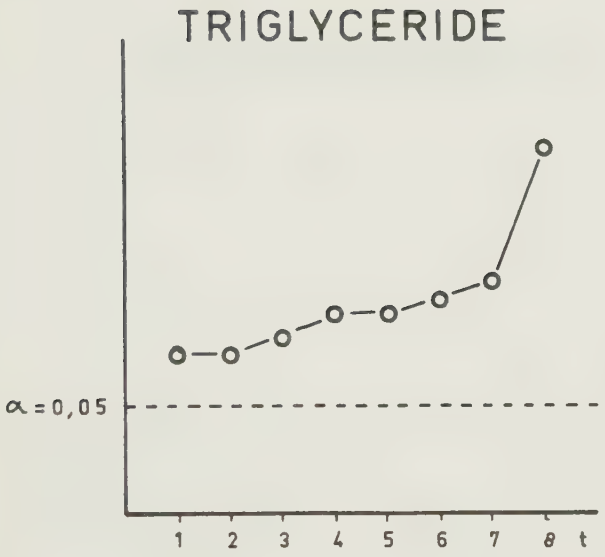


Abb. 16

Lebergewicht / 100g Körpergewicht

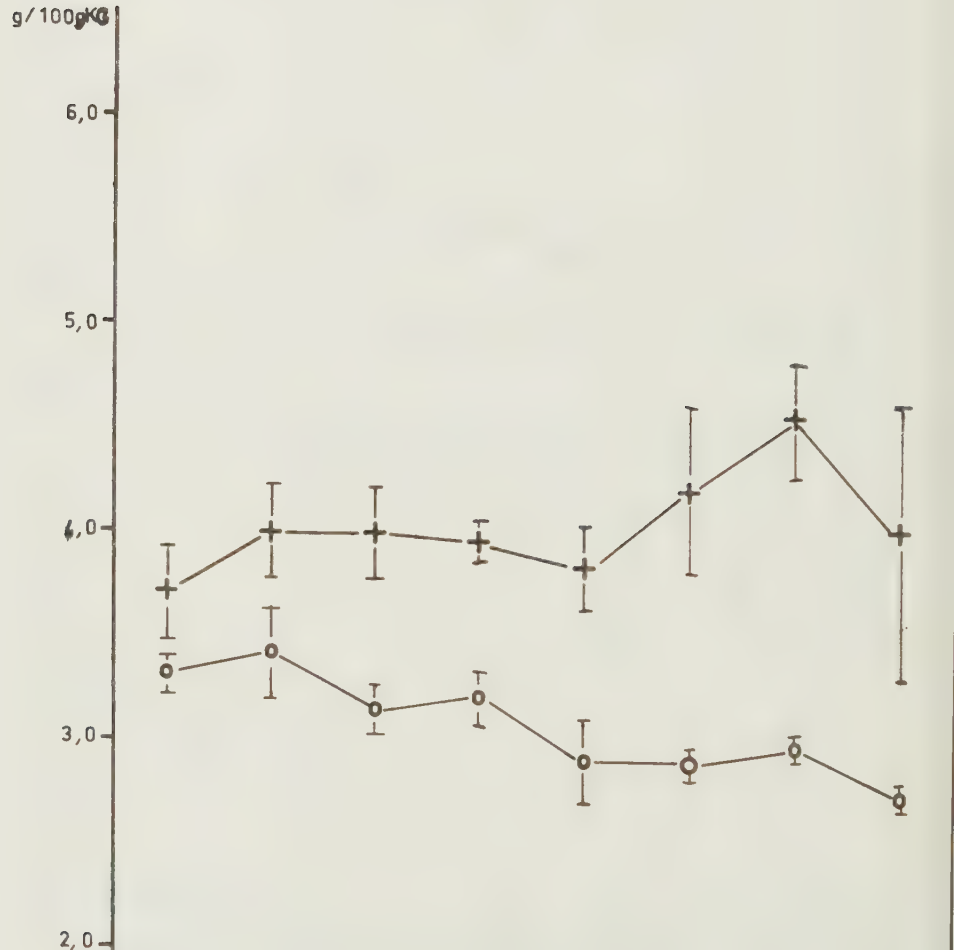


Abb. 17

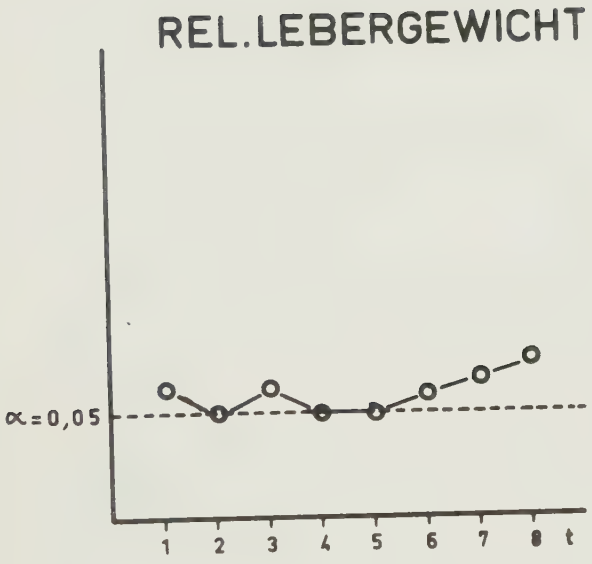


Abb. 18

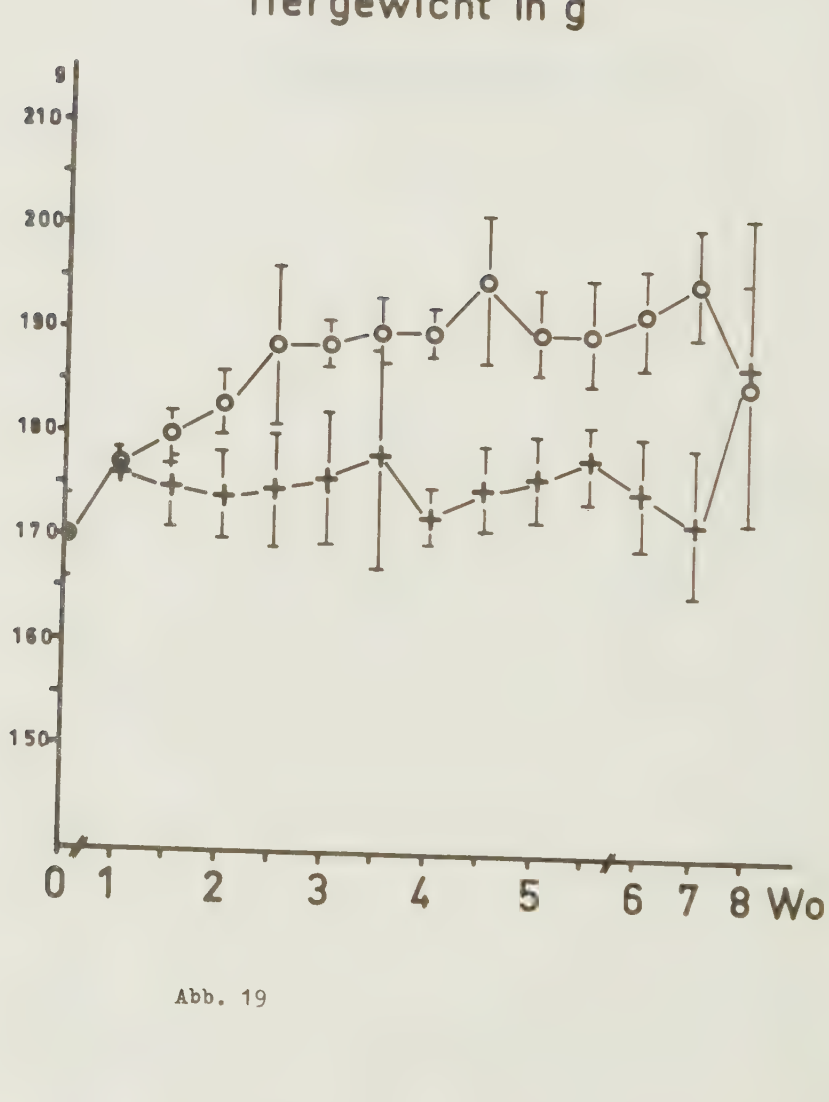


Abb. 19

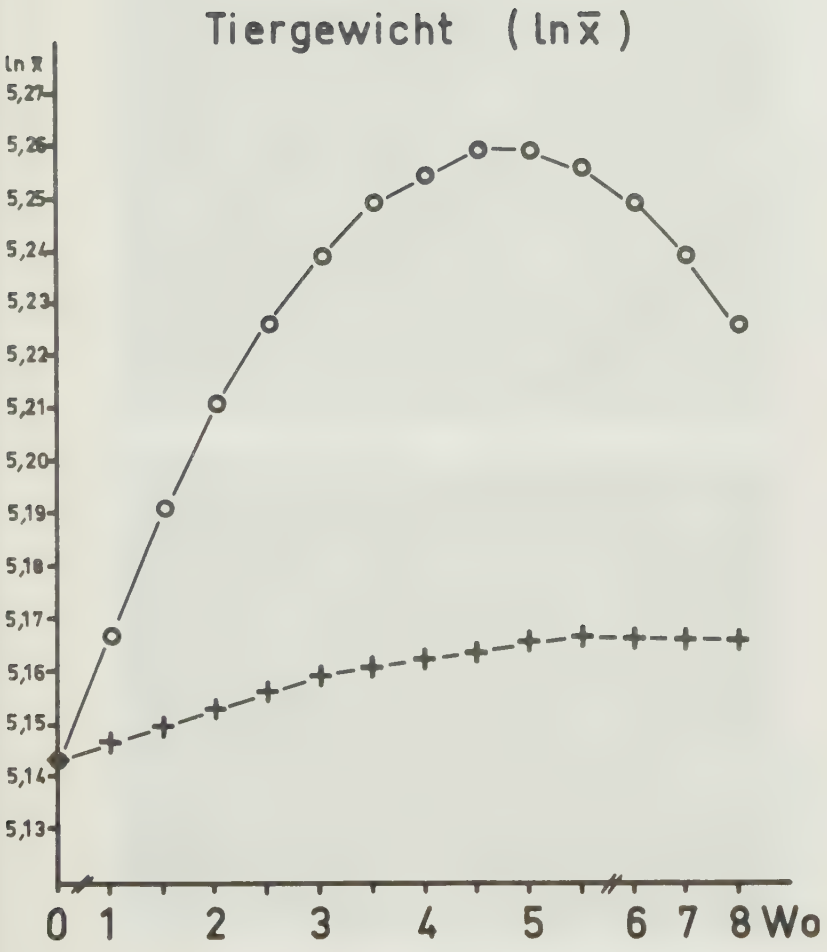

Tiergewicht (ln x̄)
ln x̄
5,27
5,26
5,25
5,24
5,23
5,22
5,21
5,20
5,19
5,18
5,17
5,16
5,15
5,14
5,13
0 1 2 3 4 5 6 7 8 Wo

Abb. 20

Abb. 21: H.E., Tripelinj., ca. 92 x
Abb. 22: H.E., Tripelinj., ca. 92 x

Abb. 23: H.E., Tripelinj., ca. 92 x
Abb. 24: Goldner, ca. 92 x

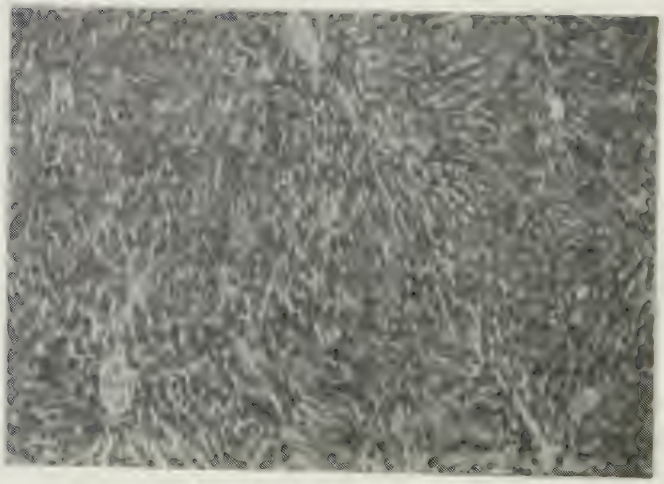


Abb. 25: H.E., ca. 232 x
Abb. 26: H.E., ca. 92 x

Abb. 27: H.E., ca. 92 x
Abb. 28: H.E., ca. 92 x

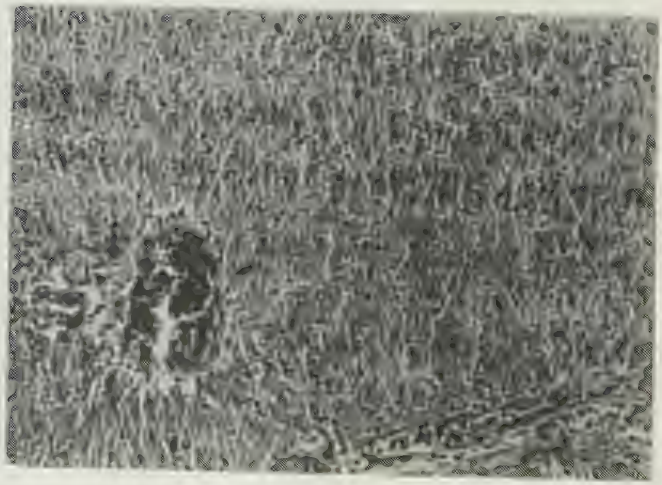


Abb. 29: H.E., ca. 92 x
Abb. 30: H.E., ca. 232 x

Abb. 31: H.E., ca. 92 x
Abb. 32: H.E., ca. 92 x

Abb. 33: H.E., ca. 92 x
Abb. 34: H.E., ca. 92 x

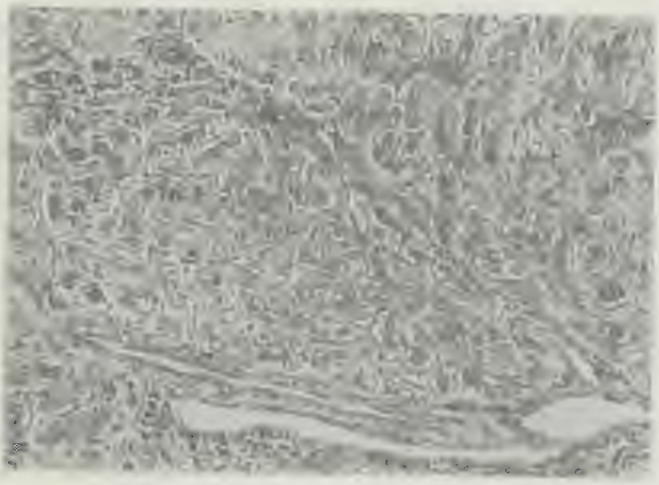


Abb. 35: H.E., ca. 232 x
Abb. 36: H.E., ca. 92 x

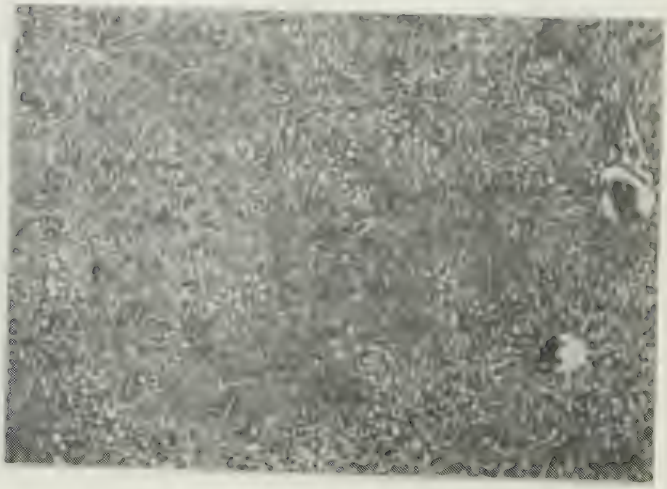


Abb. 37: H.E., Tripelinj., ca. 92 x
Abb. 38: H.E., ca. 92 x

Abb. 39: H.E., ca. 92 x
Abb. 40: H.E., ca. 92 x

Abb. 41: H.E., ca. 92 x
Abb. 42: H.E., ca. 92 x

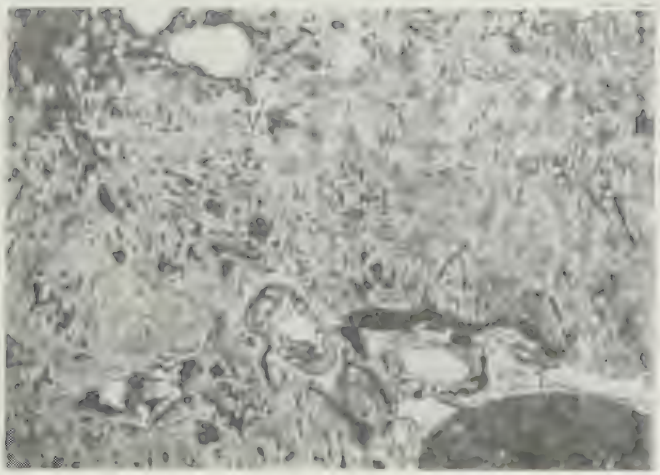


Abb. 43: H.E., Tripelinj., ca. 92 x
Abb. 44: H.E., Tripelinj., ca. 92 x

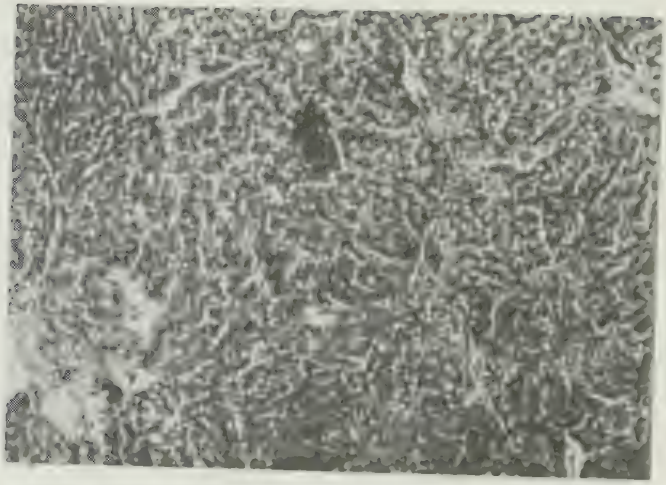
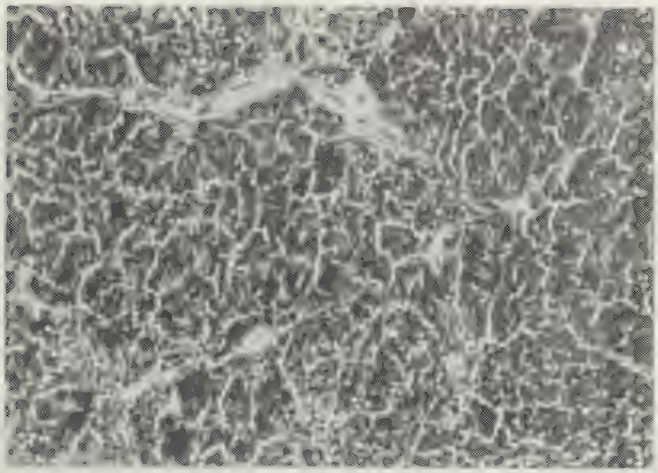


Abb. 45: Goldner, ca. 32 x
Abb. 46: H.E., ca. 32 x



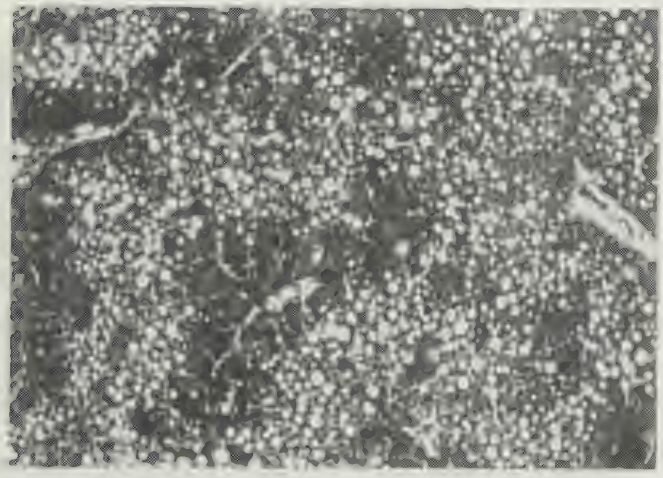
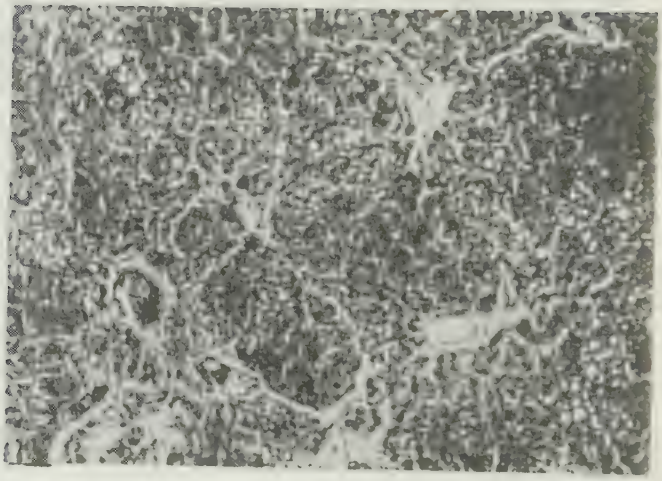


Abb. 47: Goldner, ca. 92 x
Abb. 48: Goldner, ca. 92 x



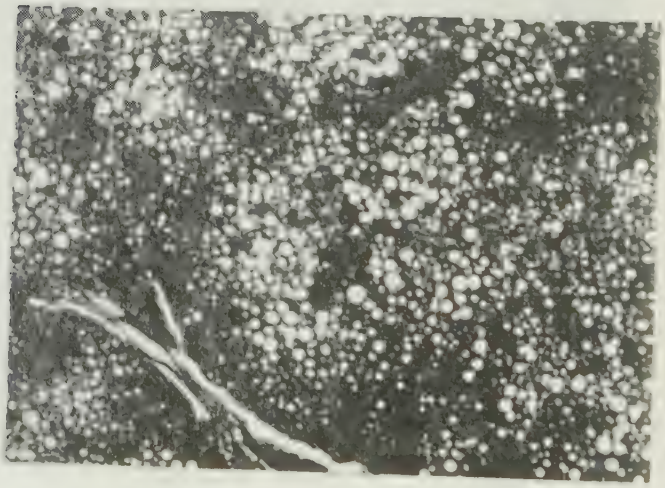


Abb. 49: Goldner, ca. 92 x
Abb. 50: H.E., ca. 92 x

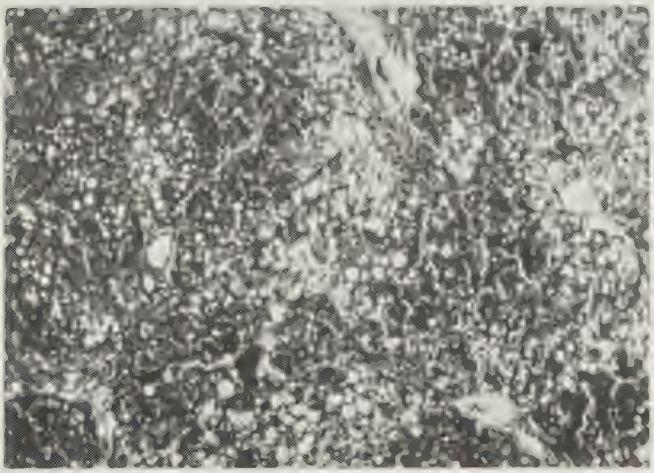


Abb. 51: Goldner, ca. 92 x
Abb. 52: H.E., ca. 92 x

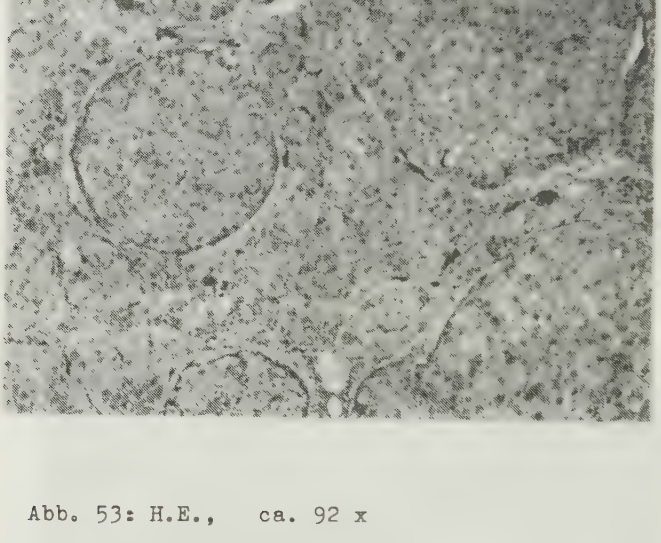


Abb. 53: H.E., ca. 92 x

GOT (mU/ml)

VG N	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	118,9	91,0	98,0	143,4	136,4	79,4	130,5	85,0
2	135,4	109,8	110,9	205,4	127,0	138,9	134,0	117,9
3	61,9	125,9	59,5	118,9	91,0	101,5	141,0	145,9
4	101,4	88,8	103,9	150,4	93,4	84,0	301,9	248,4
5	64,0	88,8	92,0	94,5	67,5	112,0	105,0	201,9
6	123,5	109,8	99,0	148,0	89,9	106,0	176,0	438,4
7	82,9	88,8	98,0	134,0	102,5	110,9	157,4	230,9
8	120,0	114,0	103,9	98,0	117,9	375,4	134,0	171,4
9		156,0	129,4	78,0	108,5		101,5	
$\bar{x}$	101,0	108,1	99,4	130,1	103,8	138,5	153,5	204,9
s	28,28	22,53	18,45	38,29	21,23	97,45	60,26	109,31
$s_{\bar{x}}$	10,00	7,51	6,15	12,76	7,08	34,45	20,09	38,65

KG N	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	114,4	56,0	84,0	70,0	67,5	64,0	88,5	91,0
2	94,4	58,0	75,9	102,5	61,9	66,5	86,4	85,0
3	104,9	67,8	84,0	86,4	57,0	88,5	107,4	78,0
4	116,5	74,8	84,0	82,9	72,4	79,4	80,5	75,9
5	125,9	79,0	91,0	98,0	64,0	66,5	84,0	91,0
6	132,9	72,0	82,9	87,5	51,4	74,5	92,0	108,5
7		72,0	80,5	73,5	70,0	60,5	114,4	70,0
8		102,8	74,5	84,0	84,0	60,5	91,0	70,0
9		97,9		108,4	70,0	60,5	71,0	88,5
$\bar{x}$	114,8	75,6	82,1	88,1	66,5	69,0	90,6	84,2
s	13,91	15,93	5,21	12,7	9,44	9,83	13,24	12,31
$s_{\bar{x}}$	5,68	5,31	1,94	4,26	3,15	3,78	4,41	4,10

Tab. 1

GPT (mU/ml)

VG / N	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	32,2	17,5	24,5	22,0	37,4	25,5	13,3	22,0
2	28,7	19,9	19,9	45,5	35,0	38,5	20,3	25,5
3	25,9	16,4	14,0	19,9	30,4	33,9	19,2	35,0
4	28,0	18,5	29,0	28,0	23,4	32,5	40,9	50,0
5	32,5	24,5	24,5	18,5	23,4	38,5	52,5	45,5
6		18,5	21,0	28,0	25,5	32,5	25,5	51,4
7		16,4	26,9	38,5	21,0	39,5	25,5	25,5
8		21,0	22,0	16,4	23,4	132,2	21,0	31,5
9		35,0	22,0	26,9	31,5		10,5	
$\bar{x}$	29,5	20,9	22,6	27,1	27,9	46,6	25,4	35,8
s	2,83	5,88	4,35	9,59	5,85	34,87	13,36	11,72
$s_{\bar{x}}$	1,27	1,96	1,45	3,20	1,95	12,33	4,45	4,14

KG / N	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	17,5	12,9	18,5	21,0	15,0	18,5	10,5	12,9
2	14,0	12,9	21,0	24,5	16,4	17,5	9,4	10,5
3	20,3	18,5	15,0	17,5	21,0	21,0	17,5	10,5
4	23,4	17,5	18,5	18,5	22,0	24,5	8,0	12,9
5		18,5	18,5	17,5	14,0	12,9	11,5	14,0
6		11,5	22,0	16,4	17,5	25,5	11,5	11,5
7		14,0	21,0	16,4	16,4	19,9	18,5	9,4
8		14,0	19,9	15,0	14,0	17,5	14,0	14,0
9		12,9	21,0	18,5	15,0	17,5	12,9	15,0
$\bar{x}$	18,8	14,7	19,5	18,4	16,8	19,4	12,6	12,3
s	4,01	2,68	2,13	2,85	2,91	3,87	3,52	1,91
$s_{\bar{x}}$	2,00	0,89	0,71	0,95	0,97	1,29	1,17	0,64

Tab. 2

Pseudocholinesterase (mU/ml)

VG N	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	41,4	30,1	17,0	34,9	11,8	17,4	17,8	12,4
2	37,2	27,8	19,8	16,8	11,2	23,4	16,4	23,6
3	23,0	21,2	13,8	16,6	11,9	21,4	16,1	18,0
4	21,6	30,1	19,5	26,7	10,6	24,5	13,9	18,9
5	24,4	33,1	14,8	16,7	13,2	21,8	18,1	18,5
6	30,3	16,8	12,1	17,5	16,7	24,0	14,1	13,3
7	38,5	30,6	16,4	20,3	22,5	28,6	20,0	6,9
8	37,2	18,6	12,0	21,7	14,7	27,8	15,2	14,4
9		35,0	14,7	17,8	15,5		10,0	
$\bar{x}$	31,7	27,0	15,6	21,0	14,2	23,6	15,7	15,7
s	7,87	6,54	2,86	6,17	3,73	3,59	2,91	5,09
$s_{\bar{x}}$	2,78	2,18	0,95	2,06	1,24	1,27	0,97	1,80

KG N	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	66,1	53,5	35,5	67,0	80,0	40,2	64,8	50,6
2	78,7	76,8	72,7	63,5	30,6	34,2	32,8	52,3
3	56,0	71,6	52,0	39,3	41,8	49,6	28,6	59,9
4	50,4	40,4	52,9	49,8	59,1	49,6	44,3	34,5
5	55,7	49,3	29,8	53,8	42,9	38,4	65,7	64,3
6	40,9	47,6	35,3	44,5	30,0	48,3	51,7	63,5
7		51,7	32,9	63,5	51,5	69,5	56,7	42,9
8		67,1	34,1	77,4	58,4	40,0	46,9	44,5
9		52,6	79,3					
$\bar{x}$	58,0	56,7	47,2	57,3	49,3	46,2	48,9	51,6
s	13,07	12,19	18,35	12,71	16,67	11,02	13,63	10,64
$s_{\bar{x}}$	5,33	4,06	6,12	4,94	5,89	3,89	4,82	3,76

Tab. 3

Alk. Phosphatase (mU/ml)

VG N	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	127,2	173,1	195,6	195,6	443,9	180,2	536,9	180,2
2	279,6	125,6	387,9	387,9	305,8	338,5	399,0	304,1
3	939,0	196,6	301,0	301,0	296,5	101,5	781,3	435,2
4	158,3	229,3	361,8	361,8	169,3	294,8	1289,0	513,2
5	129,4	212,9	296,6	296,6	245,7	150,7	470,0	305,8
6	143,6	189,5	524,8	524,8	233,1	318,3	568,8	809,7
7	118,5	249,5	279,2	279,2	223,9	316,7	773,5	170,9
8	156,7	678,7	304,2	304,2	356,5	502,3	614,3	549,8
9		498,5	228,2	228,2	176,3		383,6	
$\bar{x}$	150,9	283,7	319,9	319,9	272,3	275,4	646,3	408,6
s	56,1	182,0	96,8	96,8	88,5	127,8	280,1	214,7
$s_{\bar{x}}$	19,8	60,7	32,3	32,3	29,5	45,2	93,4	75,9

KG N	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	125,6	131,0	123,9	144,5	83,5	67,1	85,1	74,8
2	98,3	189,2	131,0	122,8	92,8	45,3	113,7	71,0
3	78,1	105,4	102,1	144,5	76,4	68,8	87,8	110,8
4	127,2	174,7	118,5	106,5	94,4	94,4	107,8	102,1
5	80,3	198,2	180,2	106,5	87,4	83,5	141,1	89,0
6		167,2	120,1	188,0	65,5	99,9	198,8	87,4
7		163,8	118,5	121,0	87,4	161,6	154,7	78,1
8		187,3	152,9	91,3	109,2	156,1	121,5	63,9
9		165,4	102,1	130,4	91,2	109,2	127,4	69,3
$\bar{x}$	101,9	164,7	127,7	128,4	87,5	98,4	126,4	82,9
s	23,7	29,6	24,9	28,5	12,2	39,3	35,3	15,7
$s_{\bar{x}}$	10,6	9,9	8,3	9,5	4,1	13,1	11,8	5,2

Tab. 4

Ges. Bilirubin (mg/100 ml)

VG N	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	0,24	0,26	0,53	0,36	0,23	1,47	0,66	0,23
2	0,14	0,36	0,30	0,60	0,16	0,61	0,36	0,54
3	0,42	0,27	0,43	0,41	0,53	0,59	0,50	0,41
4	0,72	0,23	0,44	0,37	0,27	0,77	0,41	1,01
5	0,42	0,27	0,26	0,33	0,26	0,61	0,25	0,59
6	0,33	0,33		0,34	0,29	0,56	0,69	1,27
7		0,47		0,42	0,59	1,26	0,45	2,00
8		0,27		0,86	0,62	1,78	0,33	0,57
9		0,44			0,38			
$\bar{x}$	0,38	0,32	0,39	0,46	0,37	0,96	0,46	0,83
s	0,20	0,08	0,11	0,18	0,17	0,48	0,15	0,58
$s_{\bar{x}}$	0,08	0,02	0,05	0,06	0,06	0,17	0,05	0,20

KG N	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	0,10	0,30	0,11	0,29	0,18	0,29	0,15	0,27
2	0,10	0,04	0,26	0,26	0,43	0,27	0,16	0,28
3	0,30	0,16	0,27	0,25	0,20	0,23	0,19	0,31
4		0,19	0,23	0,25	0,17	0,34	0,25	0,31
5		0,08	0,25	0,26	0,20	0,13	0,31	0,35
6		0,21	0,32	0,35	0,26	0,10	0,16	0,27
7		0,32		0,15	0,25	0,41	0,26	0,18
8				0,26	0,27	0,23		0,27
9					0,18	0,38		0,28
$\bar{x}$	0,17	0,19	0,24	0,26	0,24	0,26	0,21	0,28
s	0,12	0,10	0,07	0,06	0,08	0,11	0,06	0,05
$s_{\bar{x}}$	0,07	0,04	0,03	0,02	0,03	0,04	0,02	0,02

Tab. 5

BSP-Retention (mg/100 ml)

VG N	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	0,14	0,85	0,81	0,52	0,56	1,3o	0,66	0,30
2	0,57	0,46	0,35	1,53	1,53	1,00	6,33	0,44
3	0,83	1,10	0,24	0,27	0,68	0,82	6,56	1,59
4	0,72	0,58	1,79	0,56	1,24	1,10	0,78	7,84
5	0,72	0,34	0,48	1,31		4,48	0,85	1,10
6	0,37	0,81	0,24	0,61			0,48	
$\bar{x}$	0,56	0,69	0,65	0,80	1,00	1,74	2,61	2,25
s	0,26	0,28	0,60	0,50	0,46	1,54	2,97	3,17
$s_{\bar{x}}$	0,11	0,11	0,24	0,20	0,23	0,69	1,21	1,42

KG N	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	0,28	0,57	0,29	0,29	0,18	0,36	0,39	0,51
2	0,20	0,38	0,16	0,26	0,98	0,36	0,22	0,19
3		0,17	0,11	0,55	0,03	0,30	0,30	0,34
4		0,14	0,74	0,30	0,44	0,39	0,27	0,40
5		0,23	0,43	0,33	0,21	0,36		0,24
$\bar{x}$	0,24	0,30	0,35	0,35	0,37	0,35	0,30	0,34
s	0,06	0,18	0,25	0,12	0,37	0,03	0,07	0,13
$s_{\bar{x}}$	0,04	0,08	0,11	0,05	0,16	0,01	0,04	0,06

Tab. 6

g Hydroxyprolin/g Leberfrischgewicht

VG N	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	309,8	277,6	282,1	543,2	587,0	494,9
2	446,3	324,5	277,1	212,7	561,4	523,6
3	241,9	365,9	238,3	354,2	536,2	1091,2
4	194,5	345,2	380,0	461,9	662,3	405,5
5	273,5	387,3	376,8	450,8	372,9	485,1
6	201,3	647,0	401,1	477,6	396,4	682,9
7	226,5	272,0	370,6	402,5	498,6	400,0
8		553,9	295,9	376,2	499,9	573,5
9		401,5				
$\bar{x}$	270,5	397,2	327,7	409,9	514,3	582,1
s	87,34	125,51	60,97	99,93	95,79	224,94
$s_{\bar{x}}$	33,01	41,84	21,55	35,33	33,87	79,53

KG N	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	304,5	156,1	287,3	357,3	373,0	460,7
2	295,2	195,3	574,9	376,0	473,7	459,5
3	217,6	265,1	309,2	642,6	489,6	566,3
4	440,4	356,7	314,7	281,4	302,5	460,3
5	314,4	420,1	376,0	264,7	288,6	327,2
6	438,4	314,0	251,8	300,1	256,7	290,5
7	385,3	260,3	288,7	284,2	301,5	236,7
8	341,0	195,7	254,4	288,7	252,6	275,8
9	360,6	200,6	460,9	354,9	246,8	302,6
$\bar{x}$	344,2	262,6	346,4	350,0	331,7	375,5
s	71,58	86,97	107,72	116,69	93,22	112,91
$s_{\bar{x}}$	23,86	28,99	35,91	38,89	31,07	37,64

Triglyceride (mg/g Lebertrockengewicht)

VG N	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	7,71	5,41	1,45	3,63	6,33	1,96	3,72	8,57
2	6,16	4,92	7,12	7,74	6,18	8,67	5,59	25,83
3	4,27	1,86	1,65	6,93	10,83	1,12	5,83	24,45
4	5,52	1,50	6,47	10,62	7,84	5,68	5,69	2,77
5	5,14	3,81	8,58	9,64	8,68	7,67	3,60	11,08
6	2,29	5,04	15,56	8,22	8,46	7,23	12,86	6,77
7	1,74	5,38	9,13	10,06	14,72	11,54	12,73	6,61
8	5,16	2,05	12,02	6,91	3,90	2,55	3,62	9,76
9		2,00	9,39	4,32	4,75		8,73	
$\bar{x}$	4,75	3,55	7,93	7,56	7,97	5,80	6,93	12,10
s	1,96	1,68	4,52	2,43	3,30	3,66	3,69	8,71
$s_{\bar{x}}$	0,69	0,56	1,51	0,81	1,10	1,29	1,23	3,08

KG N	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	1,15	0,78	0,54	0,64	0,56	0,44	0,61	1,13
2	1,04	1,14	0,62	0,59	0,70	0,70	0,84	0,94
3	1,33	0,76	0,54	0,48	0,40	0,52	0,91	0,82
4	1,04	0,67	0,45	0,51	0,46	0,46	0,88	0,96
5	0,96	0,80	0,50	0,50	0,45	0,41	0,95	1,13
6	1,25	0,63	0,48	0,48	0,37	0,58	0,72	0,92
7		0,83	0,64	0,64	0,23	0,51	0,92	0,73
8		0,52	0,69	0,51	0,40	0,48	0,96	0,61
9		0,69		0,59	0,32	0,78	1,14	0,78
$\bar{x}$	1,13	0,76	0,56	0,55	0,43	0,54	0,88	0,89
s	0,14	0,17	0,08	0,06	0,14	0,12	0,15	0,17
$s_{\bar{x}}$	0,06	0,06	0,03	0,02	0,05	0,04	0,05	0,06

Tab. 8

Lebergewicht/100 g Körpergewicht

VG N	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	4,07	3,59	4,00	3,85	4,22	4,54	4,69	4,16
2	3,84	3,52	3,94	3,70	3,57	4,06	4,64	4,21
3	3,85	4,42	3,53	4,19	4,21	3,13	4,55	5,03
4	3,78	4,35	3,76	3,82	3,40	3,66	4,33	4,11
5	3,84	3,72	4,61	4,12	3,84	5,11	3,83	3,78
6	3,93	4,03	3,89	3,97	3,91	4,50	5,09	3,58
7	3,10	3,78	3,90	4,03	3,30	4,12	4,12	2,43
8	3,21	4,50	4,31	3,81	4,29	4,55	4,41	4,69
9		4,05	3,66	3,69	3,75		4,92	
$\bar{x}$	3,70	4,00	3,96	3,91	3,83	4,21	4,51	4,00
s	0,35	0,37	0,33	0,18	0,36	0,61	0,39	0,78
$s_{\bar{x}}$	0,12	0,12	0,11	0,06	0,12	0,22	0,13	0,28

KG N	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	3,14	3,29	3,07	3,50	3,04	3,14	3,22	2,93
2	3,45	3,52	3,26	3,18	2,86	2,66	2,88	2,74
3	3,48	3,46	2,97	3,20	2,17	2,79	3,05	2,40
4	3,27	3,27	3,33	3,09	3,50	2,82	2,87	2,63
5	3,30	3,77	3,05	3,37	2,74	3,14	3,21	2,61
6	3,36	3,61	3,02	2,87	2,72	2,97	3,05	2,77
7		3,40	3,19	3,28	2,99	2,98	3,17	2,64
8		2,88	3,20	3,20	2,85	2,64	3,09	2,86
9		3,73	3,19	3,12	3,00	2,88	2,71	2,69
$\bar{x}$	3,33	3,44	3,14	3,20	2,87	2,89	3,03	2,70
s	0,13	0,27	0,12	0,18	0,35	0,18	0,17	0,17
$s_{\bar{x}}$	0,05	0,09	0,04	0,06	0,12	0,06	0,06	0,06

Tab. 9

Tiergewicht (g; T_o = 0 Wo)

Versuchsgruppe

175	170	165	175	175	175	150	175	$\bar{x}$ 169,8
165	175	165	180	170	165	160	170	s 6,23
175	175	175	175	185	175	160	165	$s_{\bar{x}}$ 2,20
165	160	170	175	175	180	150	180	
175	165	170	170	175	190	160	175	
185	165	165	175	170	165	155	160	
165	165	165	160	180	170	150	160	
165	175	175	160	175	175	155	170	
170	165	175	175	165	165	160	170	
200	170	175	175	185	170	160	175	
185	170	165	165	170	165	155	165	
200	175	165	170	160	160	155	185	

Kontrollgruppe

155	155	150	165	175	170	195	190	$\bar{x}$ 168,7
155	155	170	155	170	165	170	165	s 10,18
160	165	160	170	195	185	190	165	$s_{\bar{x}}$ 3,60
165	160	165	155	185	165	170	155	ln $\bar{x}$ 5,13
165	150	165	175	155	185	190	155	
150	155	155	160	165	175	175	190	
155	155	160	175	175	195	165	180	
155	150	160	175	190	175	190	180	
160	165	145	175	165	165	175	180	
155	150	160	175	200	190	175	175	

Tab. 10

Tiergewicht (g; T_1 = 1 Wo)

Versuchsgruppe

185	175	165	180	175	180	170	185
165	175	175	190	170	170	175	175
175	185	175	175	190	180	175	175
170	165	180	180	185	185	165	175
180	170	170	170	180	190	175	175
185	165	170	180	170	165	175	160
175	170	170	170	180	175	165	170
165	175	185	170	180	175	170	180
175	170	180	180	165	170	165	175
195	175	190	175	195	175	175	185
190	180	175	170	175	175	170	170
195	185	170	175	165	175	165	190

$\bar{x}$ 175,9
s 2,74
$s_{\bar{x}}$ 0,97
ln $\bar{x}$ 5,17

Kontrollgruppe

170	160	165	175	175	170	200	190
175	160	185	165	170	170	175	170
170	180	180	180	205	190	195	170
175	180	175	170	195	180	175	160
175	160	180	185	155	185	200	160
155	170	170	175	165	175	185	195
160	175	175	185	200	170	195	185
170	165	170	190	195	180	200	180
170	185	165	180	165	170	180	185
165	165	175	180	205	190	180	175

$\bar{x}$ 177,2
s 6,56
$s_{\bar{x}}$ 2,32
ln $\bar{x}$ 5,18

Tab. 10 a

Tiergewicht (g; $T_{1,5}$ = 1,5 Wo)

Versuchsgruppe

180	175	160	175	170	180	170	185	$\bar{x}$ 174,4
160	180	170	190	175	165	170	175	s 15,4
175	180	175	170	185	170	175	165	$s_{\bar{x}}$ 1,57
165	165	170	170	180	175	155	185	ln $\bar{x}$ 5,16
175	170	170	175	180	185	170	175	
185	160	160	170	170	160	170	155	
165	170	170	165	185	170	160	170	
160	175	180	165	185	180	175	175	
170	165	185	175	165	170	165	170	
200	175	180	175	185	170	175	185	
195	175	180	165	170	175	165	170	
195	175	165	170	155	170	160	190	

Kontrollgruppe

165	165	165	175	180	175	205	200	$\bar{x}$ 179,3
180	160	190	175	170	170	175	175	s 11,5
175	185	180	185	200	190	195	175	$s_{\bar{x}}$ 1,29
180	185	175	170	190	175	180	160	ln $\bar{x}$ 5,19
180	165	180	185	160	190	200	160	
160	175	170	180	170	175	180	200	
165	180	180	190	200	170	195	190	
175	165	170	190	195	175	195	180	
175	185	165	180	170	170	180	190	
170	165	185	175	205	195	180	180	

Tab. 10 b

Tiergewicht (g; T_2 = 2 Wo)

Versuchsgruppe

170	150	185	165	175	165	185
175	165	185	170	170	165	175
180	175	175	185	165	175	175
155	160	165	185	185	160	180
165	165	170	185	155	170	180
155	160	165	165	170	170	160
165	175	170	175	185	170	170
175	190	165	195	165	170	170
155	185	180	160	175	165	180
175	185	175	195	165	180	190
170	185	170	165	170	165	165
175	165	175	155	165	195	

$\bar{x}$ 174,0
s 18,4
$s_{\bar{x}}$ 2,02
ln $\bar{x}$ 5,16

Kontrollgruppe

165	165	175	185	175	210	200
165	195	175	175	175	180	180
190	185	185	205	190	200	180
180	180	170	195	180	185	160
165	185	190	160	190	205	165
180	170	180	170	180	190	200
180	185	195	200	175	200	185
165	180	200	195	180	200	185
185	170	185	170	175	180	190
170	190	180	210	195	185	180

$\bar{x}$ 183,2
s 12,13
$s_{\bar{x}}$ 1,45
ln $\bar{x}$ 5,21

Tab. 10 c

Tiergewicht (g; $T_{2,5}$ = 2,5 Wo)

Versuchsgruppe

165	145	185	170	175	175	190
165	165	190	175	170	170	180
180	175	185	190	160	165	170
150	160	170	190	190	160	190
165	175	170	185	160	170	175
155	155	170	165	175	170	155
165	180	170	180	175	170	170
180	190	165	190	170	180	180
160	190	180	170	165	165	175
175	190	175	200	170	175	185
175	185	170	155	160	155	165
170	170	155	165	195	170	

$\bar{x}$	174,8
s	24,199
$s_{\bar{x}}$	2,66
ln $\bar{x}$	5,16

Kontrollgruppe

165	170	180	185	180	215	200
170	200	180	175	175	180	180
185	190	185	205	195	200	175
185	180	175	195	180	190	165
175	190	195	165	190	205	165
185	185	200	205	180	205	185
170	180	200	200	185	200	185
190	170	190	170	175	180	190
170	195	185	210	200	185	180

$\bar{x}$	188,5
s	31,13
$s_{\bar{x}}$	3,72
ln $\bar{x}$	5,24

Tab. 10 d

Tiergewicht (g; T_3 = 3 Wo)

Versuchsgruppe

140	190	165	175	175	195
175	195	170	170	175	185
175	180	185	160	160	165
165	180	180	190	160	190
165	165	185	160	175	175
155	165	175	170	170	160
180	155	180	180	170	170
190	150	195	175	175	185
195	170	170	175	170	175
190	170	200	170	180	185
190	160	155	175	160	160
165	160	155	165	195	

$\bar{x}$	175,8
s	26,28
$s_{\bar{x}}$	3,12
ln $\bar{x}$	5,17

Kontrollgruppe

170	185	185	180	215	200
200	180	175	175	180	180
190	190	210	195	205	180
180	180	195	180	190	165
190	195	165	195	205	170
175	180	175	180	190	200
190	205	205	180	205	185
185	205	200	180	205	185
170	190	170	175	185	190
190	185	210	200	190	180

$\bar{x}$	187,8
s	12,19
$s_{\bar{x}}$	1,57
ln $\bar{x}$	5,24

Tab. 10 f

Tiergewicht (g; $T_{3,5}$ = 3,5 Wo)

Versuchsgruppe

155	195	180	175	175	195
175	195	175	175	175	190
170	190	195	165	165	180
180	175	185	195	170	190
195	175	190	165	185	180
190	170	175	175	175	165
200	170	190	180	175	170
190	170	200	175	185	190
175	180	170	190	165	185
180	210	175	185	195	165
175	185	170	180	170	160
170	200				

$\bar{x}$	177,6
s	43,14
$s_{\bar{x}}$	5,20
ln $\bar{x}$	5,18

Kontrollgruppe

205	190	190	185	210	195
190	190	180	175	185	185
185	195	210	200	195	180
195	185	200	185	190	160
180	200	170	195	205	170
195	190	180	180	190	200
185	210	210	180	210	185
175	210	205	180	205	185
185	190	170	180	185	190
190	210	205	185	185	

$\bar{x}$	190,3
s	11,85
$s_{\bar{x}}$	1,54
ln $\bar{x}$	5,25

Tab. 1o g

Tiergewicht (g; T_4 = 4 Wo)

Versuchsgruppe

195	170	175	165	185
190	165	165	155	185
175	185	155	160	180
175	180	185	155	190
160	190	165	175	175
155	170	175	165	160
170	180	175	160	170
165	190	170	165	185
175	170	180	155	180
170	195	165	170	180
165	165	180	155	175
165	155	155	195	

$\bar{x}$	172,2
s	11,53
$s_{\bar{x}}$	1,50
ln $\bar{x}$	5,15

Kontrollgruppe

185	185	180	215	200
180	175	175	185	180
190	210	195	200	175
175	200	185	190	160
195	165	190	205	170
190	175	180	190	200
205	205	180	205	190
205	205	180	205	185
185	170	175	180	190
190	210	200	190	185

$\bar{x}$	188,8
s	12,80
$s_{\bar{x}}$	1,81
ln $\bar{x}$	5,24

Tab. 10 h

Tiergewicht (g; $T_{4,5}$ = 4,5 Wo)

Versuchsgruppe

200	175	175	170	205
175	170	170	165	190
175	200	165	155	180
165	185	190	155	190
175	195	170	170	175
170	180	175	165	165
180	190	180	150	175
175	190	175	155	185
170	170	180	145	190
205	175	165	190	170
185	145	180	155	140
210				

$\bar{x}$	175,4
s	15,23
$s_{\bar{x}}$	2,04
ln $\bar{x}$	5,17

Kontrollgruppe

190	190	185	215	200
195	175	180	185	185
185	215	200	200	175
200	205	185	190	160
190	170	190	210	170
205	170	190	190	200
205	200	175	205	190
190	195	185	205	190
190	165	180	185	190
210	200	190	185	

$\bar{x}$	194,2
s	24,38
$s_{\bar{x}}$	3,48
ln $\bar{x}$	5,27

Tab. 10 j

Tiergewicht (g; T_5 = 5 Wo)

Versuchsgruppe

160	170	170	195
170	165	170	185
185	190	155	180
180	170	160	195
190	180	175	190
175	185	170	160
190	170	170	170
190	175	180	190
165	175	165	185
200	185	185	190
165	160	175	160
145	200		

$\bar{x}$ 176,4
s 12,72
$s_{\bar{x}}$ 1,876
ln $\bar{x}$ 5,17

Kontrollgruppe

185	185	215	195
175	180	185	185
205	200	200	180
200	180	190	165
165	195	210	170
180	180	195	200
205	180	205	190
205	185	205	190
170	180	190	195
210	205	190	190

$\bar{x}$ 190,4
s 12,78
$s_{\bar{x}}$ 2,02
ln $\bar{x}$ 5,25

Tab. 10 k

Tiergewicht (g; $T_{5,5}$ = 5,5 Wo)

Versuchsgruppe

170	170	175	200
180	155	180	175
195	195	150	180
175	170	165	195
185	175	185	180
195	185	175	160
170	175	175	165
165	180	185	195
155	175	170	190
185	185	190	165
170	145	205	

$\bar{x}$ 177,1
s 13,30
$s_{\bar{x}}$ 2,03
ln $\bar{x}$ 5,18

Kontrollgruppe

175	185	215	200
210	180	185	185
205	200	200	180
165	180	185	165
175	195	210	170
205	180	185	200
205	180	205	190
170	190	205	195
215	175	185	195
205	185	185	

$\bar{x}$ 190,3
s 13,86
$s_{\bar{x}}$ 2,22
ln $\bar{x}$ 5,25

Tab. 10 1

Tiergewicht (g; $T_{6,7}$ = 6-7 Wo)

Versuchsgruppe			Kontrollgruppe		
175	170	190	190	215	200
155	175	185	180	185	185
190	145	175	200	205	180
170	170	190	180	190	165
180	180	180	190	210	170
180	160	155	180	195	205
175	170	165	180	210	195
175	170	190	185	210	195
175	155	195	180	190	195
185	185	185	205	190	185
165	180	155			
200					
$\bar{x}$	175,o		$\bar{x}$	191,5	
s	12,91		s	12,398	
$s_{\bar{x}}$	2,21		$s_{\bar{x}}$	2,26	
ln $\bar{x}$	5,16		ln $\bar{x}$	5,25	

Versuchsgruppe		Kontrollgruppe	
170	205	220	200
170	180	185	185
165	190	205	180
175	175	195	165
150	160	210	170
160	165	195	205
165	195	210	190
150	195	210	190
170	185	195	195
155	165	190	190
145	195		
175			
$\bar{x}$	172,2	$\bar{x}$	194,3
s	16,15	s	13,695
$s_{\bar{x}}$	3,37	$s_{\bar{x}}$	3,06
ln $\bar{x}$	5,15	ln $\bar{x}$	5,27

Tab. 10 m

Tiergewicht (g; T_8 = 8 Wo)

Versuchsgruppe		Kontrollgruppe	
205		175	
195		170	
180		165	
195		165	
195		210	
185		195	
140		200	
200		195	
		185	
$\bar{x}$	186,9	$\bar{x}$	184,4
s	20,52	s	16,48
$s_{\bar{x}}$	7,25	$s_{\bar{x}}$	5,49
ln $\bar{x}$	5,20	ln $\bar{x}$	5,21

Tab. 10 p

G LITERATURVERZEICHNIS

1.) Bengmark, S.; R. Olson: The effect of sex and testosterone on toxic liver damage.
J. Endocrin. 25:293, 1962

2.) Brodie, B.B.; R.P. Maickel: Role of the sympathetic nervous system in drug-induced fatty liver
Ann.N.Y.Acad.Sci. 104:1049, 1963

3.) Brody, T.M.; D.N.Calvert; A.F. Schneider: Alteration of carbon-tetrachloride-induced pathologic changes in the rat by spinal transsection, adrenalectomy and adrenergic blocking agents
J.Pharmacol.Exp.Ther. 131:341, 1961

4.) Brody, T.M. in: Discussion on Judah, J.D.; K.R. Rees: Mechanism of action of carbon tetrachloride
Fedn.Proc.Fedn.Amer.Socs.Exp.Biol. 18:1017, 1959

5.) Calvert, D.; T.M.Brody: Biochemical alterations of liver function by halogenated hydrocarbons.
I. in vitro and in vivo changes and their modification by ethylenediamine tetraacetate
J.PharmacolExp.Ther. 124:273, 1958

6.) Cessi, C.; C.Colombini; C.Mameli: The reaction of liver proteins with a metabolite of carbon tetrachloride
Biochem.J. 101:46 c, 1966

7.) Christie, G.S.; J.D.Judah: Mechanism of action of carbon-tetrachloride
Proc.Roy.Soc.Sci.Ser.B. 142:241, 1954

8.) Comporti, M.; C.Saccocci; M.U.Dianzani: Effect of CCl_4 in vitro and in vivo on lipid peroxidation of rat liver microsomal and mitochondrial lipids after carbon tetrachloride-poisoning
Enzymologia 29:185, 1965

9.) Cossel, L.: Die menschliche Leber im Elektronenmikroskop. Untersuchungen an Leberpunktaten
VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1964

10.)Dawkins, M.J.R.: Carbon tetrachloride poisoning in the liver of the newborn rat
J.Path.Bact. 85:189, 1963

11.)Decsi, L.; J.Mehes; F.Varga: Über Veränderungen des Leberstoffwechsels bei CCl_4-Vergiftung
Arch.Exp.Path. 231:235, 1957

12.)Dianzani, M.U.: Uncoupling of axidative phosphorylation in mitochondria from fatty livers
Biochim.Biophys.Act. 14:514, 1954

13.)Dinman, B.D.; E.A. Hamdi; C.F.Fox; W.J.Frajola: CCl_4-Toxicity: III.hepato-structural and enzymatic change
Arch.Environm.Health 7:630, 1963

14.)Duchen, L.W.: The effects of deprivation of portal blood on the liver and its influence on carbon tetrachloride liver injury in the rat
J.Exp.Path. 42:247, 1961

15.)Farrar, W.E.jr.; T.J.Magnani: Endotoxin susceptibility following hepatic injury by carbon tetrachloride
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 115:596, 1964

16.)Fishler, M.C.; C.Entenman; M.L.Montgomery; I.C.Chaikoff: The formation of phospholipid by the hepatectomized dog as measured with radioactive phosphorus
J.Bio.Chem. 150:47, 1943

17.)Folch, J.; G.H. Sloane-Stanley: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues
J.Bio.Chem. 226:497, 1957

18.)Fowler, J.S.L.: Some hepatotoxic action of hexachloroethane and its metabolites in sheep
Brit.J.Pharmac. 35:530, 1969

19.)Fowler, J.S.L.: Carbon tetrachloride metabolism in the rabbit
Brit.J.Pharmac. 37:733, 1969

20.)Fowler, J.S.L.: A new metabolite of carbon tetrachloride
Brit.J.Pharmac.,Proc.Pharmac.Soc. 36:181 P, 1969

21.)Fowler, J.S.L.: Carbon tetrachloride metabolism in sheep and in faciola hepatica
Brit.J.Pharmac. 39:599, 1970

22.)Gordis, E.: Lipid metabolites of carbon tetrachloride
J.Clin.Invest. 48:203, 1969

23.)van Handel, E.; D.B. Ziversmit: Micromethod for the direct determination of serum triglycerides
J.Lab.Clin.Med. 50:152, 1957

24.)Heimberg, M.; J.Weinstein; G. Dishmon; M.Fried: Lipoprotein lipid transport by livers from normal and CCl_4-poisoned animals
Amer.J.Physiol. 209:1053, 1965

25.)Heni, N.; H.Remmer: Die Wirkung von Tetrachlorkohlenstoff auf endoplasmatische Enzyme der Rattenleber
Arch.Toxikol. 28:1, 1971

26.)Hoffman, J.; M.B.Himes; S.Lapan; R.Riszki; J.Post: Reponses of the liver to injury:effects of acute carbon tetrachloride poisoning
AMA Arch.Path. 59:429, 1955

27.)Hoffman,J.; M.B.Himes; S.Lapan; J.Post: Responses of the liver to injury:effects of cortisone upon acute carbon tetrachloride poisoning
AMA Arch.Path. 60:10, 1955

28.)Hoffmann, G.: Kurzer Abriß der Anatomie und Physiologie der Laboratoriumstiere
VEB Gustav Fischer Verlag Jena, 1956

29.)Horne, C.H.W.; C.A.Scott; C.A.Busutti; R.N.M.Macshween: Effect of the production of experimental cirrhosis in rats on serum protein levels
Biomedicine 19:3, 1973

30.)Isselbacher, K.J.; W.A.Jones: Alterations of glucose metabolism in viral and toxic liver injury
Gastroenterology 46:424, 1964

31.)Leduc, E.H.; J.W.Wilson: Injury to liver cells in carbon tetrachloride poisoning: histochemical changes induced by carbon tetrachloride in mouse liver protected by sulfaguanidine
Arch.Path.(Chicago) 65:147, 1958

32.)Paquet, K.J.; U.Kamphausen: The carbon tetrachloride-hepatotoxicity as a model of liver damage. First report:long-time biochemical changes
Act.Hepato-Gastroent. 22(2):84, 1975

33.)Peters, J.P.; D.D.Van Slyke: Quantitative chemistry, interpretations
Ed. 2:425, Williams & Wilkins Co, Baltimore, 1946

34.)Popper, H.; F.Schaffner: Die Leber. Struktur und Funktion
Thieme Verlag Stuttgart, 1961

35.)Popper, H.; F.Schaffner: Progress in liver diseases
Grune & Stratton, New York 1965 (Band 2), 1970 (Band 3)

36.)Rao, K.S.; R.O.Recknagel: Early incorporation of carbon-labeled carbon tetrachloride into rat liver particulate lipids and proteins
Exp.Molec.Path. 10:219, 1969

37.)Rao, K.S.; E.A.Glende jr.; R.O.Recknagel: Effect of dry pretreatment on carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation in rat liver microsomal lipids
Exp.Molec.Path. 12:324, 1970

38.)Rauen, H.M.; H.Schriewer; U.Tegtbauer; J.E.Lasana: Pers. Mitt. 1971

39.)Rappaport, A.M.: The structural and functional unit in the human liver (liver acinus)
Anat.Rec. (Philadelphia) 130 (4):673, 1958

40.)Recknagel, R.O.; A.K.Goshal: New data on the question of lipoperoxidation in carbon tetrachloride poisoning
Exp.Molec.Path. 5:108, 1966

41.)Recknagel, R.O.; A.K. Goshal: Lipoperoxidation as a vector in carbon tetrachloride hepatotoxicity
Lab.Invest. 15:132, 1966

42.)Recknagel, R.O.; A.K.Goshal: Quantitative estimation of peroxidative degeneration of rat liver microsomal and mitochondrial lipids after carbon tetrachloride poisoning
Exp.Molec.Path. 5:143, 1966

43.)Recknagel, R.O.: Carbon tetrachloride hepatotoxicity
Pharm.Rev. 19 (2):145, 1967

44.)Rees, K.R.; K.P.Sinha: Blood enzymes in liver injury
J.Path.Bact. 80:297, 1960

45.)Reuber, M.D.; E.L. Glover: Cirrhosis and carcinoma of the liver in male rats given subcutaneous carbon tetrachloride
J.Nat.Inst.Cancer 44(2):419, 1970

46.)Rubin, E.; F.Hutterer; H.Popper: Cell proliferation and fiber formation in chronic CCl_4-intoxication

47.)Sachs, L.: Statistische Methoden, ein Soforthelfer
Springer Verlag Heidelberg-Berlin-New York 1970

48.)Slater, T.F.; B.C.Sawyer: The stimulatory effects of carbon tetrachloride on peroxidative reactions in rat liver fractions in vitro; inhibitory effects of free-radical scavengers and other agents
Biochem.J. 13:823, 1971

49.)Smuckler, E.A.: Structural and functional alterations on the endoplasmic reticulum during CCl_4-intoxication
In:"Structure and function of the endoplasmic reticulum in animal cells"
Proceedings of the 4.Meeting of the federation of European Biochemical Societies, Oslo 3.-7.7.1967
Universitetsforlaget Oslo 1968

50.)Stenger, R.J.: Ultrastructural alterations within hepatic parenchymal cells after CCl_4-poisoning
In: Meth.Achievm.Exp.Path. 1:677
Ed.E.Bajusz und G.Jasmin, S.Karger Verlag Basel, New York 1966

51.)Wessel, W.; A.Sobbe; I.Segschneider: Mikroangiographische histologische und korrosionstechnische Darstellung der Gefäßstrombahn mit einer Tripel-Injektion
Naturw. 59:171, 1972

52.)Wirtschafter, Z.T.; M.W.Cronyn: Free radical mechanism for solvent toxicity
Arch.Environm.Health 9:186, 1964

53.)Woessner, J.F.: The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this amino acid
Arch.Biochem. 93:440, 1961

54.)Yamasaki, S.: Behaviour of lipoperoxide in animals with hepatic lesions by CCl_4
Kurume Med.J. (Tokyo) 17 (2):65, 1970

55.)Zimmermann, H.J.; Y.Kodera; M.West: Rate of increase of in plasma levels of cytoplasmic and mitochondrial enzymes in experimental carbon tetrachloride hepatotoxicity
J.Lab.Clin.Med. 66:315, 1965

DANKSAGUNG

Meinem Doktorvater, dem Oberarzt der Chirurgischen Universitäts-Klinik Bonn, Herrn Priv.Doz. Dr. med. K.J. Paquet, danke ich für seine unermüdliche Hilfsbereitschaft, ohne die diese Arbeit nie zustande gekommen wäre.

Herrn Dr. rer. nat. D. Kayser, Merck Darmstadt, stand mir während des experimentellen Teils der Arbeit stets mit seinem Fachwissen und seinem Rat zur Seite. Die Firma Merck, Darmstadt, stellte mir dankenswerterweise neun Monate lang einen Laborplatz zur Verfügung.

Herrn Prof. Dr. med. W. Wessel, Chefarzt des Pathologischen Institutes des Städt. Krankenhauses Siegburg, früher Pathologisches Institut der Universität Bonn, (Direktor Prof. Dr. med. P. Gedigk) danke ich für die Durchführung der Tripelinjektion und die Überlassung der Präparate.

LEBENSLAUF

Am 21.12.1948 wurde ich, Ulrich Kamphausen, als erstes Kind des Städt. Angest. Albert Kamphausen und seiner Ehefrau Lieselotte, geb. Bennewitz, geboren. Nach dem Besuch der Volksschule (1955-59) und des Stift. Hum. Gymnasiums (1959-67) in Mönchengladbach bestand ich 1967 das Abitur. Zum WS 1967/68 begann ich das Studium der Medizin an der Rheinischen-Friedrich-Wilhelms-Universität in Bonn. Im Herbst 1971 legte ich die ärztliche Vorprüfung ab, Anfang 1974 bestand ich das Staatsexamen. 1972/73 verbrachte ich neun Monate in den Forschungslabors der Fa. Merck, Darmstadt, wo ich dank der Initiative meines Doktorvaters, Herrn PD Dr. Paquet und der tatkräftigen Unterstützung durch Herrn Dr. Kayser den experimentellen Teil meiner Arbeit durchführen konnte. Nach dem Staatsexamen war ich als Medizinalassistent 1974 im Kreiskrankenhaus Waldbröl tätig, ab September des Jahres im St. Josef Krankenhaus Adenau. Am 3.3.1975 erhielt ich die Approbation als Arzt. Am 7.4.1975 wurde ich zur Ableistung meines Grundwehrdienstes einberufen. Seit dem 16.9.1972 bin ich verheiratet mit Maria Kamphausen, geb. Holtkamp.
Am 1.9.1974 wurde unsere Tochter Sabine geboren.